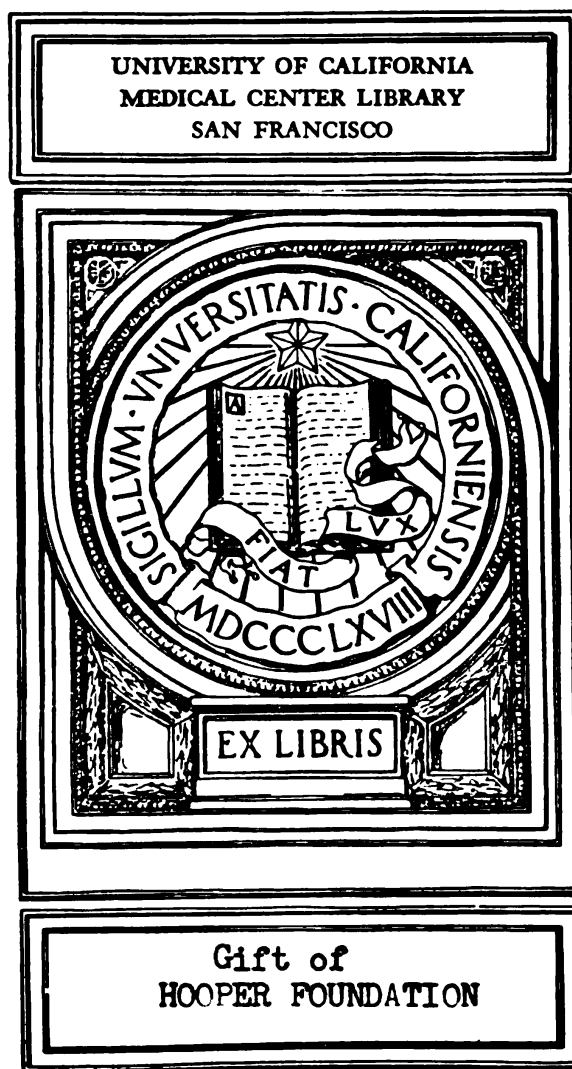


UC-NRLF



B 3 789 187

















# **ZENTRALBLATT**

für

## **Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**

---

**Erste Abteilung. 85. Band**

**Originale**





# **ZENTRALBLATT**

für

## **Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**

In Verbindung mit

**Prof. Dr. R. Abel,**  
Geh. Obermed.-Rat in Jena

**Prof. Dr. R. Pfeiffer**  
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

**Prof. Dr. M. Braun**  
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

**Prof. Dr. O. Uhlworm** und **Präsident Dr. A. Weber**  
Geh. Reg.-Rat in Bamberg Geh. Reg.-Rat in Dresden

**Erste Abteilung. 85. Band**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie  
und tierische Parasitenkunde**

**Originale**

Mit 7 Tafeln und 31 Abbildungen im Text



**Jena**

**Verlag von Gustav Fischer**  
1921





Ausgegeben am 27. September 1920.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Zytologie der Schizomyceten.

[Aus dem Institut des Josephinums zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Wien (Vorstand: Prof. Dr. Viktor K. Russ).]

Von Dr. phil. B. Schussnig,

wissenschaftlicher Hilfsarbeiter am Institut.

Mit 1 Tafel.

Die Zytologie der Bakterien verfügt über eine kaum übersehbare Zahl von Publikationen. Die vielen verschiedenen Ansichten, die darin vertreten werden, ließen sich nur in einem kritisch-historischen Sammelreferat über diesen Stoff resumieren, wie dies auch schon vielfach geschehen ist<sup>1)</sup>. Ein großer Teil der älteren Beiträge ist außerdem von naturwissenschaftlich weniger geschulten Autoren oder auf Grund unzulänglicher Untersuchungsmethoden gestützt und kommt daher für die moderne Zytologie kaum in Betracht. Hier möge daher nur soviel in aller Kürze erwähnt werden, als für das Verständnis der vorliegenden Ausführungen unumgänglich notwendig ist:

Wenn man von den zwei älteren Theorien absieht, nach deren einer die Bakterienzelle als kernlos galt (A. Fischer u. a.), und nach der Bütschli'schen Auffassung die Zelle der Schizomyceten einen sogenannten Zentralkörper (ähnlich wie dies bei den Schizophyzeen der Fall zu sein scheint) enthalten sollte, stehen heute 2 Deutungen der bisher gemachten zytologischen Befunde im Vordergrund des Interesses. Die eine, von A. Meyer u. a. verteidigte Ansicht besagt, daß, wenigstens bei einigen bisher besser untersuchten Bakterien, mit Sicherheit 1 oder zahlreiche Körperchen nachweisbar sind, welche als Zellkerne angesprochen werden können<sup>2)</sup>. Die 2. Theorie, welche ursprünglich von R. Hertwig vertreten und später hauptsächlich von A. Guilliermond u. a. weiter ausgebaut und vertieft wurde, nimmt für einen anderen Teil der Schizomyceten ein sogenanntes Chromidialsystem an. Nach der ersteren Ansicht soll also die chromatische Substanz der Zelle in einem oder mehreren individualisierten, mit Hilfe der modernen Färbemethoden sichtbar zu machenden Kernen zentralisiert sein; nach der 2. dagegen befindet sich das Chromatin diffus verteilt im Zytoplasma, einen Chromidialapparat bildend, der nach Ansicht der Autoren ein Homologon des Kernapparates darstellen soll. Obzwar nun diese beiden Theorien sich ziemlich schroff gegenüberstehen, glaube ich, daß beide für sich das Richtige getroffen haben; gingen sie doch beide aus empirisch ermittelten Tatsachen hervor. Deshalb wird es in Hinblick wohl tunlich sein, für die Zelle der Schizomyceten beide Strukturformen, in denen sich der chromatische Apparat zeigt, als den Tatsachen entsprechend gelten zu lassen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem Bakterium, welches ich, mit Unterbrechungen, seit vielen Monaten beobachte, und das ein regelmäßiger Gast in der Blinddarmflora des Meerschweinchens zu sein scheint. Wenigstens traf ich es stets in den zahlreichen Tieren, die im hiesigen Institute zu experimentellen Zwecken getötet wurden, und die ich immer wieder auf das Vorkommen dieser Bakterienart prüfte, regelmäßig an. Trotz der Häufigkeit aber und des charakteristischen Aussehens dieser Form ist es mir nicht gelungen, auf Grund der mir zugänglichen Werke eine sichere Artdiagnose zu stellen, auch schon deshalb nicht, weil alle Versuche, sie auf künstlichen Nährböden

1) Vgl. u. a. die Arbeiten 1 und 15 im beiliegenden Literaturverzeichnis.

2) Dasselbe gelang auch in überzeugender Weise E. Paravicini (16).

zu züchten (gemeinsam mit Herrn Dr. A. Luger), bisher fehlschlagen. Ich lasse daher hier gleich eine genauere morphologische Beschreibung dieser Bakterienart folgen, um ein Wiedererkennen derselben zu ermöglichen.

Das Bakterium, welches Gegenstand unserer Betrachtung werden soll, bildet Stäbchen von 5—8  $\mu$  Länge und 1—2  $\mu$  Breite. Im optischen Längsschnitte betrachtet, laufen die beiden Polenden mehr weniger spitz zu (s. Tafelfig. 1, 3, 13, 17, 29), wenngleich dies nicht immer die Regel ist. Häufig sind auch Individuen, die an dem einen Ende etwas breiter und stumpfer abgegrenzt erscheinen (s. Tafelfig. 12, 24). Es handelt sich dabei um Individuen, welche nach erfolgter Teilung das eine Ende an der Stelle, wo die beiden Tochterindividuen sich voneinander trennten, noch nicht in der für diese Art charakteristischen Weise zugespitzt haben. Solche Individuen sind dann auch im allgemeinen etwas kürzer als die normalen, vollausgebildeten. Clostridienartige Zellen sind ebenfalls nicht selten (s. Tafelfig. 11). Es dürfte sich um Individuen handeln, deren Enden zwar die normale Gestalt angenommen haben, jedoch noch nicht die normale Länge erreichten. Auf diese Weise kommt die etwas breit aussehende Gestalt zustande. Die Größenverhältnisse sind im übrigen recht variabel, wie aus den obigen Maßzahlen und den Abbildungen der Tafel ohne weiteres zu ersehen ist. Trotzdem hat die genauere morphologische und zytologische Beobachtung gezeigt, daß alle diese in ihrer Größe und zum Teil auch in ihrer äußeren Morphologie schwankenden Zellindividuen zu einer Art gehören <sup>1)</sup>.

Im Nativpräparat sind in den Zellen dieses Bakteriums kaum nennenswerte Strukturen zu erkennen. An der inneren Seite der Konturlinie der Zelle ist gewöhnlich ein sehr schmaler, dichter Plasmabelag sichtbar, während das übrige Zytoplasma ziemlich gleichmäßig feinst granuliert und mattglänzend erscheint. Dagegen lassen sich fast immer an den beiden spitz zulaufenden Polen je ein winziges lichtbrechendes Körnchen unterscheiden, über dessen Natur ich mir im Laufe meiner Untersuchungen noch nicht klar wurde. Nach Heidenhain färbt es sich gar nicht oder äußerst schwach, dagegen nimmt es bei Behandlung der Präparate mit dem Giemsa'schen Farbstoff eine leuchtend rote Farbe an. Eine ausgesprochene Zellmembran läßt sich weder im frischen (plasmolysierten), noch im fixierten Zustand nachweisen und auch die angewendeten Reaktionen auf Membransubstanzen geben kein positives Resultat. Meiner Ansicht nach liegt hier bloß eine „Pellicula“ vor.

Um so überraschender waren die Ergebnisse am fixierten und gefärbten Material. Ueber die angewendete Technik will ich nur anführen, daß der Darminhalt gleich nach erfolgter Obduktion mit steriler Oese ausgestrichen wurde und die Ausstriche nach der in der Protozoologie üblichen „feuchten“ Methode behandelt wurden. Als Fixiermittel kamen Flemming, Sublimat-Alkohol nach Schaudinn und 2-proz. Osmiumsäure zur Anwendung. Gefärbt wurde fast ausschließlich nach Heiden-

1) Im selben Substrat kommt auch noch eine zweite sehr ähnliche Form vor, die eventuell zu einer Verwechselung Anlaß geben könnte. Bei genauerer Betrachtung des Materials jedoch wird man stets in der Lage sein, diese beiden Formen auseinanderzuhalten, denn letztere bildet Stäbchen von sehr regelmäßigen zylindrischen Umrissen, mit scharf zugespitzten Enden. Ein ziemlich großer Zellkern ist sehr deutlich zu sehen, daneben kommen aber auch andere, unregelmäßig konturierte Inhaltsstoffe vor, die sich nach Heidenhain intensiv färben, und schließlich ist an den zugespitzten Polenden je ein stark färbbares Körnchen sichtbar. Die Individuen dieser zweiten Form sind auch viel spärlicher.

hain, nur einige wenige Ausstrichpräparate nach der feuchten Giemsa'schen Methode. Die besten Resultate wurden bei Fixierung mit Flemmingscher Lösung erzielt. An so behandelten Individuen sieht man vor allem eine mehr oder weniger scharf ausgeprägte Hülle, Pellicula, die besonders bei den sporenbildenden Zellen (s. u.) äußerst zart, wie mit der Feder gezogen erscheint. Dagegen ist bei sporenlosen Individuen eine schmale, körnige Ektoplasmazone sichtbar, die die Pellicula als dünner Belag von innen auskleidet. Eine schärfere Scheidung in Ekto- und Endoplasma ist kaum angedeutet. Das Zytoplasma ist entweder gleichmäßig und äußerst fein punktiert, oder aber es läßt eine schwache mehr weniger weitmaschige Alveolarstruktur erkennen (s. Tafelfig. 26, 27). Diese Angaben, unterstützt durch die auf der Tafel wiedergegebenen Figuren, dürften genügen, um ein Wiedererkennen des in Rede stehenden Bakteriums zu ermöglichen. Da ich, wie oben gesagt, nicht imstande gewesen bin, diese Art mit irgend einer schon beschriebenen Form zu identifizieren, so schlage ich den provisorischen Namen *Bacterium caviae* nov. spec. vor, vorausgesetzt, daß diese Art nicht schon von anderer Seite beschrieben erscheint.

Durchmustert man ein Ausstrichpräparat, in welchem dieses Bakterium enthalten ist, so bemerkt man sofort, daß nicht alle Individuen dieser Art das gleiche Aussehen haben. Vor allem fällt eine ziemliche Anzahl von Zellen auf, in denen das Protoplasma keine Spur einer besonderen Differenzierung erkennen läßt. Höchstwahrscheinlich sind das leere, abgestorbene Zellen, ich möchte jedoch gleich hervorheben, daß das Fehlen einer sichtbaren Struktur nicht zwingend für diese Annahme ist. Ich habe vielmehr immer wieder beobachten können, daß sich nicht nur *Bacterium caviae*, sondern auch andere Schizomyceten, Flagellaten etc., die alle im Blinddarme vorkommen, in bezug auf ihre Färbbarkeit sehr verschieden verhalten. An solche Schwankungen im tinktoriellen Verhalten ist übrigens der Zytologe gewöhnt. Es ist aber auch möglich, daß beides zutrifft. Neben diesen unstrukturierten Zellen fallen weiter solche auf, die in ihrem Innern, und zwar zentral und parallel zur Längsachse, eine langgestreckte Ansammlung von größeren Körnchen enthalten, die viel stärker als das umgebende Zytoplasma den Farbstoff speichern. Diese Körnchenreihen resp. -Ansammlungen nehmen entweder die Gestalt einer unregelmäßig verlaufenden Spirallinie an, oder sie bilden 2 getrennte, mit der Längsachse parallel verlaufende Streifen, oder aber sie treten in Form eines breiten, unregelmäßig konturierten Streifens auf (s. Tafelfig. 1—10, 13). Diese verschiedenen Erscheinungsformen entsprechen annähernd den zeitlich aufeinanderfolgenden Umwandlungen dieses merkwürdigen Gebildes, welches der Kürze halber als „Chromatinseele“ der Zelle bezeichnet werden möge. Ferner fällt es auf, daß diese Körnchenansammlungen, wenn sie eine gewisse Mächtigkeit erreicht haben, an zahlreichen Stellen unterbrochen sind, so daß sie in mehrere, oft paarig angeordnete Segmente aufgeteilt erscheinen, ein Umstand auf den wir noch später zurückkommen werden.

Bei der Teilung der Zelle zerlegt sich die Substanz der Chromatinseele in die 2 Anlagen der Tochterzellen; die beiden, nun getrennt auftretenden Ansammlungen verkürzen sich ein wenig und lassen so zwischen sich, in der Mitte der Zelle, eine quergestellte, freie, helle Zone übrig. Hier differenziert sich langsam eine Trennungsschicht, die zuerst in Form einer ganz zarten Plasmaschicht, welche immer dichter und breiter wird, auftritt. Später wird die Zelle an dieser Stelle ein-

geschnürt, bis die beiden Tochterindividuen voneinander getrennt werden (s. Tafelfig. 4, 5, 6, 7, 8). Auf diese Weise vollzieht sich die Zellteilung, wobei ich ausdrücklich bemerke, daß außer der erwähnten Struktur im Zytoplasma, die sich aktiv bei der Teilung der Zelle zu betätigen scheint, nichts zu sehen ist, was mit dem Zellteilungsvorgang in Beziehung stünde. Deshalb dachte ich anfangs, eine Form mit einem sogenannten Chromidialsystem vor mir zu haben, bis mich die weiteren Untersuchungen eines besseren belehrten. Ich fand nämlich nach und nach immer mehr Zellindividuen, die in ihrem Innern ein rundliches, den Farbstoff mehr oder weniger begierig speicherndes Körperchen von runder Gestalt enthielten, welches eine den jeweiligen Dimensionen der Zelle adäquate Größe besitzt. Diese Körperchen sind stets von einer hellen, ringförmigen Zone umgeben, die sich gegen das angrenzende Zytoplasma scharf absetzt. Dieselben Verhältnisse konnte ich auch an lebenden Zellen bestätigen, und Tafelfig. 25 stellt ein Bild einer Zelle von *Bacterium caviae* aus einem Nativpräparate dar<sup>1)</sup>. Ferner fand ich ganz ähnliche Gebilde in den noch nicht reifen Sporen und, da es mir ferner gelang, Stadien aufzudecken, die einen Zweifel über die Kernnatur dieser Körperchen in keiner Weise aufkommen lassen, so wollen wir sie jetzt schon als Kerne bezeichnen.

Der Umstand, daß nicht in allen Zellen von *Bacterium caviae* ein Zellkern sichtbar ist, gab zu denken, um so mehr, als die vegetativen Individuen das Chromatin in diffuser Verteilung enthalten. Die Zellteilung vollzieht sich, wie wir oben sahen, nur an solchen Zellen. Es lag daher der Gedanke nahe, daß ein individueller Kern nur zum Zwecke der Vollziehung bestimmter Funktionen auftreten könnte, womit ein Fall von Metabolismus des Kernapparats vorläge, wie dies bei gewissen Protisten heute mit Sicherheit bekannt ist. Bestärkt in dieser Annahme wurde ich auch durch die Auffindung solcher Stadien, in denen neben der sogenannten Chromatinseele auch noch ein deutlich differenzierter Kern sichtbar war<sup>2)</sup> (s. Tafelfig. 7, 9). Auch der Einwand, daß es sich um 2 verschiedene Arten handeln könnte, ist nicht stichhaltig, wenn man sich die Figuren 7 und 9 und besonders die Tafelfig. 13 ansieht. In allen 3 Fällen erkennt man neben der Chromatinseele auch schon einen deutlichen Kern, in der Fig. 13 ist sogar die junge Sporenanlage sichtbar, die einen distinkten Kern aufweist, während der vegetative Rest der Zelle bloß diffus verteiltes Chromatin enthält. Man sieht aus dem Vergleich solcher Stadien, daß der Zeitpunkt des Auftretens eines individualisierten Zellkerns temporären Schwankungen unterworfen ist.

Der Zellkern nimmt in der ruhenden Zelle gewöhnlich eine zentrale Lage ein. Erst, wenn sich die Sporenanlage zu entwickeln beginnt, wird er mehr und mehr gegen eines der beiden Enddrittel der Zelle verschoben. Nun findet man aber schon sehr früh in den Zellen, die sich zur Sporenbildung anschicken, außer dem schon erwähnten vegetativen Kern einen 2. Kern in der jungen Sporenanlage; letzterer bleibt während der folgenden Umwandlungsprozesse, die sich in der heranreifenden Spore abspielen, noch lange Zeit gut sichtbar. Dieses zwei-

1) Die genaueren Lichtbrechungsverhältnisse der einzelnen Protoplasmabestandteile, sind in dieser Figur nicht ganz klar zum Ausdruck gebracht.

2) Ich möchte an dieser Stelle bemerken, daß natürlich nicht die ganze Masse der Chromatinseele unbedingt aus Chromatinsubstanz bestehen muß. Das stärkere Tinktionsvermögen an sich ist noch kein Beweis dafür. Jedenfalls scheint aber doch die Chromatinsubstanz zu überwiegen.

kernige Stadium ließ eine vorangegangene Kernteilung vermuten, was auch durch die späteren Beobachtungen bestätigt wurde. Die Tafelfig. 26, 27 und 28 geben davon eine Vorstellung.

Das Bild, welche diese karyokinetischen Figuren bieten, entspricht vollkommen demjenigen einer primitotischen Teilung an Protistenkernen, womit die Annahme M. Hartmanns und A. Höllings (11, 13), nach der die Bakterien einfache Karyosomkerne enthalten sollten, eine Bestätigung findet. In der 1. Figur (26) sehen wir, daß das Karyosom eine Spindel gebildet hat, welche an den beiden Polen von den stärker tingierbaren Polplatten begrenzt wird; in der Mitte der Spindel sieht man außerdem noch eine schwach ausgebildete Aequatorialplatte. Infolge der Längsstreckung der Karyosomsubstanz bei der Bildung der Spindel streckt sich auch der Außenkern, welcher die chromatische Spindel der ganzen Länge nach umgibt<sup>1)</sup>. In den 2 nächstfolgenden Abbildungen (27 und 28) haben wir 2 Stadien der Telophase vor uns: die beiden Tochterkaryosome sind schon fertig ausgebildet und zwischen ihnen spannt sich eine äußerst feine und zarte Zentrodese aus. Der Raum, den der Außenkern eingenommen hatte, ist in beiden Figuren sichtbar, in der letzteren in Gestalt einer zentralen, länglichen Vakuole mit verschwommenen Umrissen; dagegen zeigen die beiden Karyosome in derselben Fig. 28 die neuen Anlagen der Außenkerne, welche die aus der Teilung hervorgegangenen Tochterkaryosome umgeben. Während des Kernteilungsprozesses, in der Telophase, wandern die beiden Tochterkaryosome resp. Tochterkerne sehr weit voneinander weg, so daß der Abstand zwischen den neugebildeten Kernen ein relativ großer, ungefähr ein Drittel der Zelllänge messender wird. Man wolle diesen Umstand, mit Rücksicht auf spätere Erörterungen, beachten. Auf diese Weise entstehen die 2 vorhin erwähnten Kerne, von denen einer im vegetativen Teil der Zelle verbleibt, während der 2. in die Sporenanlage hineinwandert und so zum Sporenkern wird.

Die jüngsten Stadien der Spore bestehen aus einer immer dichter werdenden Ansammlung von Zytoplasma, welche entweder apikal oder von dem einen Ende der Zelle etwas weiter zentralwärts gelagert sein kann (s. Tafelfig. 12, 13). Die Plasmamasse, welche sofort als Sporenanlage zu erkennen ist, rundet sich nach und nach an ihren freien Enden ab und grenzt sich gegen das umgebende Zytoplasma immer schärfer ab. Allmählich kommt die längs-ovale resp. bohnenförmige Gestalt immer mehr zum Ausdruck, währenddessen der Inhalt der Sporen immer dichter und grobkörniger wird und eine immer intensivere Färbung annimmt. Das Plasma der Zelle dagegen bleibt entweder unverändert, oder es wird um eine Spur blässer. Eine epiplasmatische Ansammlung um die Spore herum ist nicht selten zu beobachten (s. Tafelfig. 23, 24). Die Struktur der Spore ist eine grob-alveoläre, mit breiten, schollenartigen Maschen. Schließlich wird die Sporenschubstanz so dicht, daß die Spore infolge der starken Speicherung von Farbstoff als eine homogen aussehende, gleichmäßig dunkel-blauschwarz gefärbte Masse erscheint (s. Tafelfig. 22). Vor dem Erreichen dieses kompakten Aussehens ist die Plasmastruktur der Spore, wie schon gesagt, eine lockerere, und in solchen Stadien ist man gewöhnlich in der Lage, den Sporenkern noch zu erkennen (s. Tafelfig. 15, 16).

Zu einem Zeitpunkt, der dem Kompaktwerden der Sporen vorausgeht, teilt sich der Sporenkern (s. Tafelfig. 17, 18, 19). Die Teilungs-

<sup>1)</sup> Bezüglich der hier angewendeten Nomenklatur vgl. 9 und 21 im Literaturverzeichnis.

figuren weichen von den früher beschriebenen vegetativen Kernteilungen etwas ab. Das Karyosom teilt sich hantelförmig, das Verbindungsstück zwischen den beiden Tochterkaryosomen ist dicker: eine feine, deutlich ausgeprägte Zentrodese tritt nicht auf. Der Außenkern ist im allgemeinen, wegen der die Beobachtung störenden groben Struktur des Sporenplasmas, undeutlich zu sehen. Bei Tafelfig. 19 jedoch kann man ganz deutlich wahrnehmen, wie er der Teilung des Karyosoms durch Längsstreckung folgt. Weitere Details im Teilungsprozeß des Sporenkerns konnte ich wegen des dichten Inhalts nicht verfolgen. Einmal fand ich eine unreife Spore, die aus einem mir unbekannten Grunde vor Erlangung der Vollreife die Zelle verlassen hatte, in welcher die beiden apikal gelegenen Kerne sehr deutlich hervortraten (s. Tafelfig. 21). Die ganz reifen Sporen nehmen keinen Farbstoff mehr auf, zeigen einen matten Glanz mit einem Stich ins Gelbliche und nur die Kerne vermögen noch, den Farbstoff aufzuspeichern, und sind daher dunkel gefärbt. Sie liegen auch hier, wie zu erwarten war, apikal (s. Tafelfig. 23, 24). Die reifen Sporen sind von einer deutlich sichtbaren, stärker lichtbrechenden und mitunter doppelt konturiert erscheinenden Membran umgeben. Selten beobachtet man zwei Sporen in einer Zelle, in welchem Falle sie dann die beiden Pole einnehmen. 2 solche abnorme Fälle sind in den Tafelfig. 29 und 30 abgebildet. Bei der ersten Zelle liegt neben jeder Sporenanlage ein blaßgefärbter Kern, während in der 2. Zelle die Sporen schon reifer sind, wobei man in der Mitte einen einzigen negativen Kern bemerkt. Ueber den Ablauf der Kernteilungsvorgänge in solchen abnormen Fällen läßt sich vorläufig kein Urteil fällen, da die Beobachtungen darüber zu sporadisch waren.

Am Schlusse des deskriptiven Teiles sei noch auf die Tafelfig. 20 verwiesen. Die Abbildung gibt eine junge Zelle wieder, die kurz nach der Auskeimung aus der Spore entstanden war. Keimende Sporen bekam ich höchst selten zu Gesicht. So kam es, daß ich bloß sehr wenige Stadien dieses Vorganges beobachten konnte, und diese waren in den Präparaten entweder so ungünstig gelegen oder gefärbt, daß sie sich zu einer graphischen Wiedergabe nicht eigneten. Immerhin konnte ich eine genaue Vorstellung des Keimungsprozesses gewinnen, so daß ich die in Tafelfig. 20, wiedergegebene Zelle mit Sicherheit als eine frisch ausgekeimte Zelle agnoszieren konnte. Wie früher schon hervorgehoben, besitzt die Spore von *Bacterium caviae* eine bohnenförmige Gestalt, und so kommt es, daß die aus der Spore herauschlüpfende Zelle relativ lange Zeit noch die Umrisse der Sporengestalt beibehält. Betrachten wir die in Fig. 20 abgebildete Zelle etwas genauer, so bemerken wir sofort, daß im optischen Längsschnitt die eine Seite ziemlich geradlinig verläuft, während die gegenüberliegende Konturlinie der Zelle deutlich konvex ist. Ferner können wir wahrnehmen, daß das eine Ende (und zwar das auf der beigegebenen Tafel nach unten gekehrte) schmaler als das andere ist, was sich so erklären läßt, daß dieses Ende den stärker wachsenden Pol des Keimlings darstellt. Auch die Lage der beiden Kerne spricht dafür. Was nun diese beiden Kerne anbelangt, so fällt an ihnen vor allem auf, daß sie außerordentlich aneinander genähert sind. Eine Kernteilungsphase kann es wohl im vorliegenden Falle nicht sein, denn wir haben früher schon gesehen und auch betont, daß die aus der Karyokinese hervorgehenden Tochterkerne einen viel größeren Abstand zwischen sich wahren. Außerdem lehrt uns ein Blick auf die Tafelfig. 26, ohne weiteres, daß die Prophase

und frühe Metaphase ein grundverschieden morphologisches Aussehen besitzt. Es kann sich daher nur um eine beginnende Kernverschmelzung handeln. Wir sehen denn auch, daß die beiden Außenkerne bereits ineinandergeflossen sind, so einen gemeinsamen Hof um die beiden Karyosome bildend. Letztere stehen jedoch noch getrennt da.

Fassen wir nun, rückblickend auf das bisher Dargelegte, die ontogenetische Entwicklung von *Bact. caviae* kurz zusammen, und gehen wir zweckmäßigerweise von der reifen Spore aus. Diese keimt aus und liefert eine Zelle, welche anfangs von den gewöhnlichen vegetativen Zellen in ihrer äußeren Morphologie ein wenig abweicht, um dann später, im Laufe des weiteren Wachstums, die normale Gestalt anzunehmen. In dieser Keimlingszelle verschmelzen die 2 bis dahin getrennt gewesenen Sporenkerne zu einem Synkaryon. Später (der genaue Zeitpunkt ist schwer bestimmbar) verschwindet der Kern und an seiner Stelle tritt ein Chromidialapparat von bestimmtem Aussehen auf, welcher während der nun folgenden vegetativen Zellgenerationen die Funktion eines Zellkerns übernimmt. Die vegetativen Zellteilungen gehen an Kernen mit solchen Chromidialapparaten vor sich. Dieser Zustand der diffusen Verteilung der Chromatinsubstanz hört jedoch auf, wenn sich die vegetative Zelle zur Bildung der Spore anschickt. In diesem Falle wird abermals ein individualisierter Kern mit Karyosom und Außenkern sichtbar, jedoch teilt sich dieser Kern promitotisch in 2 Tochterkerne, wovon einer als vegetativer Kern in der Mutterzelle verbleibt, und der andere in die Sporenanlage einwandert und dort zum Sporenkern wird. Der Sporenkern teilt sich in der Spore, während der Vorbereitungsstadien zur Reife, so daß bereits die halbreife und besonders die reife Spore 2 Kerne enthält. Diese 2 Kerne sind es nun, welche in der Keimlingszelle eine Verschmelzung eingehen, womit wiederum eine vegetative Mutterzelle entstanden ist, die sich nun entweder wieder durch Teilung vermehrt, oder zur Sporenbildung schreitet.

Wenn bei Mikroorganismen Kernteilungen resp. Kernverschmelzungen vor sich gehen, so haben dieselben entweder eine direkt sichtbare funktionelle Bedeutung, oder aber, wenn eine solche nicht nachweisbar ist, müssen derartige Vorgänge eine historische Erklärung zulassen. Nun stehen die Vorgänge, die ich an den Kernen von *Bact. caviae* beschrieben habe, in keinem ursächlichen Zusammenhange mit irgendeinem Vermehrungsphänomen der Zelle, denn die Zellteilung geht, wie wir gesehen haben, an Individuen mit Chromidialsystemen vor sich und die Spore könnte genau so gut auch einkernig sein. Eine plausible Erklärung für diese scheinbar unvermittelt dastehenden Vorgänge kann in der Annahme gegeben sein, daß es sich bei der Verschmelzung der beiden Sporenkerne im Keimling um einen autogamen Prozeß handle. Das Synkaryon würde mithin während der vegetativen Periode in die Gestalt eines Chromidialsystemes übergehen, welche Erscheinungsform mit wichtigen physiologischen Prozessen sowohl für die Zelle, als auch für den Kernapparat verbunden sein könnte, um erst wieder vor der Sporenbildung als individualisierter Kern aufzutreten. Die 2 aufeinander folgenden Kernteilungen in der sporenbildenden Zelle und in der Spore selber müssen wir dann folgerichtig als diejenigen Teilungsschnitte ansehen, welche die Herabsetzung der chromatischen Substanz auf das normale Maß bewirken. Die feineren Vorgänge während dieser beiden Teilungsschritte kennen wir nicht, und sie werden sich, bei der Kleinheit solcher Objekte, wohl kaum wahrnehmen lassen. Doch es ist in hohem



Grade wahrscheinlich, daß sich dabei bestimmte Prozesse regulativer Natur abspielen, die dem Wesen nach einer Reduktionsteilung gleichkommen, trotzdem wir nicht imstande sind, dafür einen morphologischen Ausdruck aufzufinden.

Der Gedanke, daß bei Bakterien eine Autogamie vorkommt, ist zum ersten Male von H. Schaudinn an *Bac. sporonema* und *Bac. Bütschli* ausgesprochen worden. Der Schaudinnsche Gedanke wurde bisher wenig gewürdigt und blieb ohne Widerhall, denn da es sich um 2 Bazillenarten mit diffuser Chromatinverteilung handelte, so schien dies den landläufigen Vorstellungen von Befruchtungsvorgängen, bei denen man stets individualisierte Kerne als Befruchtungselemente zu sehen gewohnt ist, zu widersprechen. Abgesehen davon aber, daß die Erfahrungen der letzten Zeit deutlich gezeigt haben, daß der Kernapparat der Protisten nicht immer die wohlbekannte Physiognomie zu haben braucht, glaube ich, daß meine Befunde an *Bact. caviae* zugunsten der Schaudinnschen Annahme sprechen, was das Mesotorische dieser Frage anlangt, wenn auch die Verhältnisse im einzelnen bei meinen und den von Schaudinn untersuchten Organismen etwas abweichen. Doch es handelt sich um die prinzipielle Frage, ob bei Bakterien derartige Vorgänge überhaupt denkbar sind, und das, glaube ich, kann man heute, bei tieferer Einsicht in die Protistenzytologie, bejahen. Das Vorkommen autogamer Prozesse bei Bakterien gestattet eine genauere Beurteilung der phylogenetischen Entwicklungshöhe dieser Organismengruppe. Die Autogamie ist, wie dies jetzt widerspruchslos anerkannt wird, ein stark abgeleiteter Sexualvorgang<sup>1)</sup>, und, wenn sie daher bei irgendeiner Organismengruppe entweder allgemein oder in ihren Endgliedern auftritt, so sind wir zu dem Schlusse berechtigt, solche Organismen ebenfalls für nicht ganz ursprünglich zu halten. Die Ansicht, daß die Schizomyzeten keine ursprünglichen, sondern stark abgeleitete Organismen sind, wurde von verschiedenen Forschern zu wiederholten Malen ausgesprochen, ohne jedoch sehr großen Anklang zu finden. Die außerordentliche Kleinheit sowie die Einfachheit in der morphologischen Gestaltung der Bakterien, ferner die eigenartige zytologische Differenzierung des Bakterienzellleibes, die immer wieder für einen primitiven Zustand gehalten wird, führten zur Festigung der Anschauung, daß die Schizomyzeten die ursprünglichsten Organismen kat' exochen wären. Ich kann mich dieser Ansicht nicht anschließen, und deshalb sei mir gestattet, diese Frage mit ein paar Worten zu erörtern:

Ich will noch vorausschicken, daß die Gruppe der Schizomyzeten systematisch nicht einheitlich ist, sondern vielmehr als ein Sammelbegriff für mehrere polyphyletisch entstandene Reihen zu verstehen ist. Ja, es wird noch abzuwarten sein, ob es sich im einzelnen nicht gar bloß um konvergente Typen handelt, doch will ich mich über diesen Punkt nicht weiter verbreiten. Hier soll nur geprüft werden, wie der Schizomyzeten-Typus, also die diese Organismengruppe auszeichnende Organisation entstanden ist.

Faßt man die Gesamtheit der Mikroorganismen ins Auge, so lassen sich unter ihnen mehrere Entwicklungstendenzen unterscheiden, die zunächst mit der phylogenetischen Entfaltung nichts zu tun haben, und die sich in bestimmte morphologische Typen einreihen lassen. Diese „Tendenzen“ sind der Ausdruck entwicklungsmechanischer Prozesse, welche stets zu einer höheren Organisation resp. Konstitution führen,

1) Siehe 10 im Literaturverzeichnis.

auch wenn das habituelle Aussehen der in Betracht zu ziehenden Organismen nicht sofort eine komplexere Organisation erkennen läßt. Diese Vorgänge fortschreitender Entwicklung (im Sinne der Erlangung einer immer höheren Organisationsstufe) können durch die verschiedensten äußeren und sonstigen Faktoren ausgelöst sein, das Wesen derselben herrscht aber immer in einer „Integration“ von Merkmalen der verschiedensten Art einerseits, und in einer „Reduktion“ andererseits, die den teilweisen Abbau der konstitutionellen Integration bewirkt, und neue Wege für weitere Entwicklungsmöglichkeiten im Wege sekundärer Anpassungen schafft. Diese 2 Vorgänge, welche wir auf Grund zahlloser Beobachtungen an der Ausgestaltung und Fortentwicklung der Protisten feststellen und abstrahieren können, greifen selbstverständlich ineinander, und aus den unendlich vielen Kombinationsmöglichkeiten dieser 2 antagonistisch wirkenden Kräfte können wir 3 Fälle herausgreifen, die eine Erklärung ihrer Wirkungsweise ermöglichen:

1) Eine Organismengruppe, die wir in der Jetztzeit vor uns haben, erweckt den Eindruck des Stationären, d. h. die Integration, oder, besser gesagt, die hauptsächlich durch diese bewirkte Fortentwicklung spielte sich sozusagen vor unseren Augen ab.

2) Die Phase der Integration ist quantitativ in den Hintergrund gerückt, und es setzt bereits der Vorgang der Reduktion ein, wobei allerdings die erste Phase noch immer prädominiert. Und

3) Die Phase der Reduktion wiegt vor, d. h. die ursprüngliche Organisation ist fast oder zum großen Teil erloschen und die Organismen weisen eine neue, veränderte Physiognomie auf, deren Zusammenhang mit dem ursprünglichen Habitus gar nicht oder sehr schwer festzustellen ist. Es ist klar, daß in einem solchen Falle die resultierende Organisation eine äußerlich recht einfache sein kann, die uns aber deshalb nicht irreführen darf.

Der letzte Fall trifft bei dem Schizomyceten zu. Ihre Organisation trägt entschieden den Stempel einer sehr weit gediehenen Reduktion, die zunächst, wie dies schon seit jeher erkannt wurde, in ihren Größenverhältnissen zum Ausdruck kommt. Diese enorme Verkleinerung des Zellkörpers stellt unter den vielen entwicklungsmechanischen Prozessen reduktiver Natur eine besondere Entwicklungstendenz dar, die ökologisch in dem mathematischen Satz begründet ist, daß bei abnehmendem Volumen die Oberfläche im Verhältnis zunimmt. Der ganze Vorgang zielt also auf eine Oberflächenvergrößerung der aktiven Leibessubstanz dieser Organismen hin. Da wir ferner wissen, daß bei biochemischen Prozessen die Oberfläche der aktiven Substanzen eine bedeutende Rolle spielt, wenn wir andererseits die Bedeutung der Schizomyceten für den Haushalt der Natur ins Auge fassen, eine Bedeutung, die in erster Linie auf ihre chemische Wirksamkeit zurückgeht, so wird uns ohne weiteres klar, daß dieser ökologische Faktor von bestimmendem Einfluß bei der morphologischen Ausgestaltung der Bakterien gewesen sein muß. Diese Gesichtspunkte gestatten uns, bestimmende Schlüsse bezüglich einer Ableitung der Bakterien zu ziehen. Irgendeine Organismenform, welche uns als Ausgangstypus dienen könnte, kennen wir nicht. Diese Frage wird auch durch die polyphyletische Natur der Schizomyceten wesentlich erschwert. Am plausibelsten scheint mir noch die schon oft gemachte Annahme zu sein, nach welcher ein Teil der Bakterien wenigstens auf flagellatenähnliche Lebewesen zurückzuführen sei, weil entschieden gewisse Ähnlichkeiten in der Organisation vorhanden sind.

Dies gilt vor allem für die beweglichen Urbakterien. Um nicht aber in das Gebiet der reinen Spekulation zu geraten, wollen wir uns an die oben angeführten Formen halten und wollen versuchen, wenigstens einen Weg, den die Bakterienentwicklung eingeschlagen hat, zu beleuchten.

Die zytologischen Befunde an *Bacillus Bütschli*, *B. sporonema* und *Bacterium caviae* lassen die Annahme zu, daß sie von vielzelligen oder zumindest polyenergialen Organismen von uns unbekannter Art abstammen. Gleichgültig ob eine hypothetische Kolonie oder ein Kälblast als Ausgangstypus angenommen wird, die Tatsache, daß bei diesen Formen ein autogamer Vorgang besteht, deutet auf die virtuell polyenergiale Natur dieser Organismen hin, derzufolge in einem bestimmten Zeitpunkt der Ontogenese wenigstens zwei nachweisbare Individualitäten zum Vorschein kommen. Dieses gelegentliche Auftreten einer ancestralen Pluripotenz, hauptsächlich beim Fortpflanzungsgeschäft, ist im Reiche der Protisten eine sehr häufige Erscheinung, und ich habe darauf bereits in einer früheren Arbeit (23) hingewiesen. Nach Vollendung der autogamen Verschmelzung der beiden Kerne (resp. ihrer Homologa) tritt uns die Zelle als eine Einheit auf, die wir auf Grund der vorausgegangenen Prozesse schon als eine Einheit höheren Grades ansehen müssen. Mithin ist die Bakterienzelle nicht eine starre, unipotente „Elementareinheit“, sondern sie ist etwas „Entstandenes“, ein Formelement, welches, wie alles im organischen Reich, eine Geschichte hinter sich hat und nur infolge eines jener vielen Konvergenzprozesse, die sich so oft und an so vielen Stellen des Organismenreiches abgespielt haben, uns im Stadium der „Zelle“ (im morphologisch-deskriptiven Sinne!) entgegentritt.

Diese Auffassungsweise gestattet uns auch das gelegentliche Vorkommen von 2 Sporen (s. Tafelfig. 29, 30) in phylogenetischem Sinne zu erklären. Es braucht uns nach dem Gesagten nicht wunderzunehmen, wenn eine Bakterienzelle, die virtuell plurivalent ist, ausnahmsweise mehr als eine Spore entwickelt. Das ist schließlich nichts anderes als eine Analogie zu dem gelegentlichen Vorkommen von 2 Eizellen in 1 Organium! Aber auch das Vorkommen von Gebilden, wie eins in Tafelfig. 31 abgebildet ist, dürfen unser Interesse in Anspruch nehmen. Es sind das teratologisch veränderte Zellen, die dadurch auffallen, daß sie in mehrere Segmente zerlegt sind. Tafelfig. 31 zeigt ein Zellenpaar, welches knapp nach der Zweiteilung steht und dessen beide Tochterindividuen in mehrere Segmente zerfallen sind. Solche Stadien bekam ich öfters zu sehen, gewöhnlich erscheinen die einzelnen Teilstücke unstrukturiert, doch es kommen auch solche vor, die in ihrer Mitte je 1 Körperchen enthalten, welches, nach seinem Aussehen und färbischen Verhalten zu urteilen, als ein Kern zu bezeichnen ist. Hier tritt also die theoretisch geforderte plurivalente Konstitution der Zelle deutlich zutage. Und nun noch ein Umstand. In den Tafelfig. 3, 6, 9, 13, 19 sehen wir, worauf ich schon oben aufmerksam gemacht habe, die Chromidialsubstanz eigentümlich metamer angeordnet, wobei die meist paarweise Gruppierung der Teilportionen auffällt. Diese Erscheinung erinnert entschieden an die besprochene Segmentierung und dürfte im Prinzip derselbe Vorgang sein, wie auf die chromatische Substanz projiziert.

Ich werde bei der Besprechung einer zweiten Schizomyzetenform, ebenfalls aus dem Blinddarm des Meerschweinchens, auf diese Probleme noch ausführlicher zurückkommen. Hier möchte ich nur noch erwähnen, und zwar nicht bloß aus selbstverständlicher Freundespflicht, daß mein Kollege, Dr. Franz Frimmel, von theoretischen Gesichtspunkten

ausgehend und noch in Unkenntnis meiner Befunde, zu einer ganz ähnlichen Auffassung der phylogenetischen Ableitung der Schizomyceten gelangte, wie sich es anlässlich einer gelegentlichen Aussprache herausstellte.

Und nun seien mir noch ein paar Worte über das sogenannte Chromidialsystem gestattet. Ich habe schon eingangs bemerkt, daß die Existenz eines Chromidialapparates kaum in Zweifel gestellt werden kann; die zytologischen Befunde an tierischen Protisten lassen diese Annahme zwanglos zu, und R. Hertwig hat diesen Begriff auf die Bakterienzytologie übertragen. Um die von verschiedenen Seiten gehegten Zweifel in dieser Hinsicht zu beheben, möge auf gewisse analoge Erscheinungen hingewiesen werden, die die Entstehungsmöglichkeit unserem Verständnis näher bringen können. Ich will vorausschicken, daß die natürlichste Erklärung für das Zustandekommen eines Chromidialapparates in der Bakterienzelle die ist, daß die Chromatinsubstanz durch die feine Verteilung im Zytoplasma ihre Oberfläche im Interesse einer gesteigerten Wechselwirkung zwischen Zyto- und Karyoplasma enorm vergrößert. Das ist bei physiologisch so aktiven Organismen wie den Bakterien wichtig und natürlich. Ich halte daher auch die diffuse Chromatinverteilung nicht für einen primitiven Zustand, sondern vielmehr für einen sekundär erworbenen Vorgang. Ähnliches kennen wir schon seit langem im Pflanzenreiche. Ich erinnere nur an die Chromatophoren! Diese für die vitalen Prozesse der pflanzlichen Zelle so äußerst wichtigen Organelle sind entweder in der Einzahl oder in einer Mehrzahl vorhanden, je nachdem die rationelle Ausnutzung der Lichtstrahlen auf diesem oder jenem Wege besser bewerkstelligt wird. Sind viele kleine Chromatophoren in einer Zelle vorhanden, so ist es klar, daß die Oberfläche der Chromatophorensubstanz dadurch vergrößert wird. Schließlich kann die Zerkleinerung des Assimilationsapparats auch weiter gehen, bis keine individualisierten Chromatophoren mehr nachweisbar sind, sondern bloß eine mit Farbstoffteilchen in Suspension enthaltende Zytoplasmazone nachweisbar ist (vgl. *Hydrodictyon*, *Schizophyceen*). Vergleichen wir diese Tatsachen mit den Verhältnissen bei den Kernen: wir wissen, daß in Zellen welche besondere Funktionen zu verrichten haben, so z. B. in sezernierenden, Drüsenzellen etc., meist der Kern bestrebt ist, seine Oberfläche zu vergrößern. Nicht selten sind es die amöboid gestalteten Kerne, welche auf diese Weise ihren Zweck erfüllen. Doch kommt es auch zu einer Vermehrung der Kerne selbst, auch amitotische oder mitotische Teilung, was zur Folge hat, daß in der betreffenden Zelle einige bis zahlreiche kleinere Kerne entstehen, die alle zusammen genommen den Kernapparat der Zelle darstellen, allerdings mit einer ungleich größeren Oberfläche. Fälle dieser Art sind, um nur ein paar zufällig herausgegriffene Beispiele zu erwähnen, die Zellen an den Griffelkanälen von *Sambucus* und *Lilium Mortagon* (nach P. N. Schürhoff, 21, 22) und die starke Vermehrung der Kernzahl in den Gewebszellen der Beltschen Körperchen von *Acacia Sphaerocephala* (nach den Befunden Millk Jokls, 14) u. v. a. m. Auf diese Weise glaube ich, das Zustandekommen eines Chromidialapparates plausibel gemacht zu haben, und es möge das Wenige, was zugunsten dieser Theorie ausgeführt wurde, an dieser Stelle genügen.

Abgeschlossen im Dezember 1919.

Erklärungen der Figuren auf der Tafel im Text. (Vergrößerung ungefähr 3000-fach. Zeiss Apochromat  $\frac{1}{13}$ , Apert. 1:25, Reichert-Kompens.-Okular Nr. 12.)

**Literaturverzeichnis.**

- 1) Ambrož, A., Entwicklungszyklus des *Bacillus nitri* sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909.) —
- 2) Bütschli, O., Ueber den Bau der Bakterien und verwandten Organismen. Leipzig 1890. — 3) Derselbe, Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1908.) — 4) Derselbe, Weitere Untersuchungen über Bakterien und Cyanophyceen. (Ebenda.) — 5) Doflein, F., Lehrbuch der Protistenkunde. 4. Aufl. Jena 1916. — 6) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena 1916. — 7) Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores. (Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908.) — 8) Derselbe, A propos de la structure des Bacilles endospores. (Ebenda. Bd. 19. 1910.) — 9) Hartmann, M., Die Konstitution der Protistenkerne und ihre Bedeutung für die Zellenlehre. Jena 1911. — 10) Derselbe, Autogamie bei Protisten und ihre Bedeutung für das Befruchtungsproblem. Jena 1909. — 11) Hartmann, M., und Mühlens, Ueber *Bacillus fusiformis* und *Spirochaete dentium*. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906.) — 12) Hertwig, R., Die Protozoen und die Zelltheorie. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1902.) — Hoelling, A., Die Kernverhältnisse von *Fusiformis termitides*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910.) — 14) Jokl, M., Ueber die Beltschen Körperchen. (Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss., Math.-naturw. Kl. Bd. 126. 1917.) — 15) Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. Jena 1912. — 16) Paravicini, E., Zur Frage des Zellkernes der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 48. 1918.) — 17) Pavillard, Etat actuel de la Protistologie végétale. (Progress. rei botan. Vol. 3.) — 18) Růžicka, V., Struktur und Plasma. Wiesbaden 1908. — 19) Derselbe, Cytologie der sporenbildenden Bakterien und die Chromidialtheorie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1909.) — 20) Schaudinn, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus Bütschli*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1902.) II. *Sporonema*. (Ebenda. Bd. 2. 1903.) — 21) Schürhoff, P. N., Ueber regelmäßiges Vorkommen zweikerniger Zellen an den Griffelkanälen von *Sambucus*. (Biolog. Centralbl. Bd. 36. 1916.) — 22) Derselbe, Die Drüsenzellen des Griffelkanals von *Lilium Montagon*. (Biolog. Centralbl. Bd. 38. 1918.) — 23) Schussnig, B., Ueber den Zellkern der Protophyten. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. 37. 1919.) — 24) Swellengrebel, H. N., Untersuchungen über die Zytologie einiger Fadenbakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. 70. 1909.) — 25) Wettstein, R., Handbuch der systematischen Botanik. 2. Aufl. Bd. 1. 1911.

Nachdruck verboten.

## Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918–19–20. II.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.  
(Prof. M. Hahn).]

Von Dr. Otto Olsen, Freiburg i. B.

### 6. Ueber die Bedeutung des Blutes für das Wachstum des Pfeifferschen Influenzabazillus.

Im vorhergehenden Teile der Arbeit wurde auf Besonderheiten der Biologie des Influenzabazillus schon häufiger hingewiesen, die ihn als einen labilen, empfindlichen und anspruchsvollen Organismus kennzeichneten. Eine interessante und fast ungeklärte Eigentümlichkeit des Influenzabazillus ist sein Verhalten zum Blut, die ihn als hämoglobophil charakterisiert und von fast allen anderen bekannten Bakterienarten unterscheidet.

Die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen über die Bedingungen, die dem Influenzabazillus das Wachstum auf bluthaltigem Nährsubstrat ermöglichen, widersprechen einander vielfach. Von Pfeiffer zuerst erkannt, fand die wachstumsbegünstigende Wirkung des Blutzusatzes zum Nährboden zwar allgemeine Bestätigung und praktische Verwertung; über die Ursachen dieses fördernden Einflusses gehen die Meinungen noch auseinander.

Nach zahllosen vergeblichen Versuchen, den in mikroskopischen Präparaten gefundenen und in der Originalkultur gezüchteten Influenzabazillus nun auch auf gewöhnlichem Agar weiterzuzüchten, fand Pfeiffer im Blut den lange gesuchten

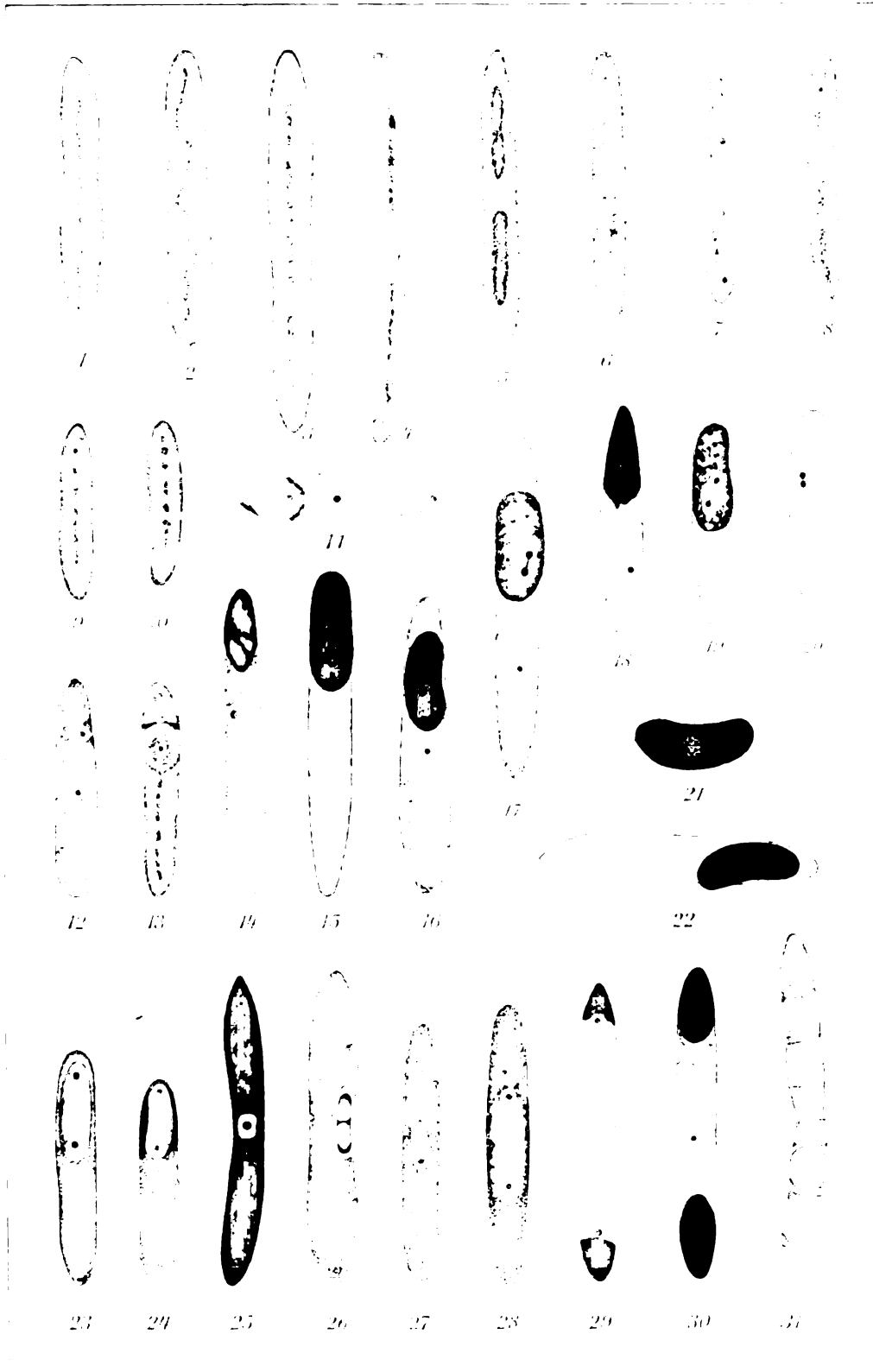


Abb. 1-31. Orig.



Nährstoff. Er stellte fest, daß ein Wachstum auf völlig klarem, zellfreiem Blutserum ausblieb, dagegen aber eintrat, wenn serumfreie, gründlich gewaschene Blutkörperchen verwendet wurden. Seine Vermutung, daß der in den roten Blutkörperchen enthaltene Blutfarbstoff das wirksame Agens sei, suchte er zu bestätigen, indem er Nährböden mit Lösungen von Hämoglobin versetzte. Durch mehrfaches Gefrieren und Auftauen oder durch Schütteln mit einer Spur Aether wurden die gewaschenen, roten Blutkörperchen zerstört, der Blutfarbstoff in Lösung übergeführt, der Aether im Vakuum bei niedriger Temperatur verdampft und die restierende hämoglobinhaltige Lösung mittels eines Kieselgurfilters von den Stromabestandteilen getrennt. Auf Nähragar, der mit diesem Präparat versetzt wurde, entwickelten sich die Influenzabazillen ebenso reichlich wie im vollen Blut. Augenscheinlich handelte es sich nach der Beschreibung der Herstellung indessen um ein mit anderen Substanzen verunreinigtes Hämoglobinpräparat, so daß Beweise für Pfeiffers Vermutung, daß die Wirksamkeit des Blutes auf der Hämoglobinkomponente beruhe, durch diese Versuche nicht erbracht wurden. Die Frage, ob das Hämoglobin infolge seiner Eigenschaft als Sauerstoffträger wirksam sei, glaubte Pfeiffer auf Grund folgenden Experiments verneinen zu können: Auf mit Influenzabazillen beimpftem Blutagar zeigte sich in reiner Kohlenoxydatmosphäre nach 24-stünd. Bebrütung kein Wachstum, weil der Influenzabazillus, als strenger Aërobier, bei völligem Fehlen des freien Luftsauerstoffs sich nicht zu entwickeln vermag. Wurde nun in das bei diesem Versuch verwendete Gefäß etwas Luft eingelassen, so zeigte sich nach weiteren 24 Std. die Oberfläche des Agars mit üppigen Kolonien von Influenzabazillen besetzt, trotz der durch Palladiumchlorür nachgewiesenen Anwesenheit reichlicher Mengen von überschüssigem Kohlenoxyd in dem Gefäß. Pfeiffer schloß daraus: Da Hämoglobin in einer kohlenoxydreichen Atmosphäre nur als Kohlenoxydhämoglobin existieren kann, als solches aber weder Sauerstoff aufzunehmen, noch abzugeben vermag, so mußte für die Influenzabazillen die Fähigkeit des Hämoglobins, lockere Verbindungen mit dem Luftsauerstoff einzugehen, gleichgültig sein. Da auch 14-stünd. bei 70° erhitzte Blutagarröhrchen, sowie mit durch Kochen geronnenem Hämoglobin versetzte Nährböden eine im 1. Falle recht gute, im 2. Falle, wenn auch sehr sparsame, so doch merkliche Entwicklung der Influenzabazillen ermöglichten, also eine Bestätigung der Kohlenoxydversuche bildeten, so hielt Pfeiffer den Gedanken für naheliegend, daß der Eisengehalt des Hämoglobins als Nährstoff für den Influenzabazillus in Betracht komme, wie Eisenlösungen für bestimmte andere Organismen, z. B. *Crenothrix polyspora*, die nur in eisenhaltigen Nährlösungen zu gedeihen vermögen. Pfeiffer hoffte daher, trotz ergebnislos ausgefallener Versuche mit Eisenalbuminat, durch systematische Experimente mit Eisensalzen einen Nährstoff zu finden, der das Blut zu ersetzen vermochte, ein Gedanke, dem später von anderen Untersuchern nachgegangen wurde.

Pfeiffer verwendete mit gleichem Erfolge Tier-, hauptsächlich Tauben- und Menschenblut, mit dem er Nähragarplatten vor der Beimpfung in dünner Schicht bestrich. Später fand, zuerst von Borchardt vorgeschlagen, die durch Mischen mit Blut hergestellte Blutagarmischplatte fast allgemeine Verwendung. Schon Pfeiffer benützte, wie erwähnt, erhitztes Blut. Auf die Methoden von Voges, amerikanischen Autoren und Levinthal, die mit großem Erfolg erhitzte Blutagargemische verwendeten, wurde bereits hingewiesen.

Eine Reihe von Untersuchern beschäftigte sich mit dem Auffinden von Ersatznährstoffen, die an Stelle des Blutes Verwendung finden konnten. Diese Versuche sind von Interesse, weil sie möglicherweise eine Aufklärung über die Funktion des Blutes geben könnten. Nastiukow sah auf Nährböden mit Eigelbzusätzen, deren Wirksamkeit er dem eisenhaltigen Hämatozen zuschrieb, die Influenzabazillen üppig gedeihen. Anderen Untersuchern, zuerst Voges, dann auch Richter, gelang es jedoch bei der Nachprüfung nicht, diese Versuche zu bestätigen. Huber suchte aus dem Hommelischen Hämatozen durch Kochen mit Kalilauge bis zu stark alkalischer Reaktion und nachträglichem Filtrieren ein dauerhaftes und steriles Blutpräparat herzustellen. Auf diesem gediehen die Influenzabazillen zwar bis zur 7. Generation, indessen war ihr Wachstum erheblich langsamer, ihre Lebensdauer aber auch größer als auf Blutagar. Richter sah auf diesem Huberschen Nährboden nur kümmerliches Wachstum. Auf Agar, der mit sterilisiertem Sputum, steriler Galle, Tauben- und Hühnereigelb bestrichen war, also auf blutfreien Nährböden, gediehen die Influenzabazillen zwar, jedoch sehr kümmerlich. Ueppiges Wachstum ließ sich erzielen auf blutigem, bei 60–70° sterilisiertem Eiter. Reiner blutfreier Trippereiter, Hämatinlösungen, ebenso die Eisenweißverbindung Ferratin (Schmiedeberg) erwiesen sich als ungeeignet. Richter glaubte aus seinen Untersuchungen schließen zu dürfen, daß das Blut in toto für das Wachstum der Influenzabazillen nicht unumgänglich nötig sei, daß dagegen der Gehalt der mit Erfolg verwendeten Substrate, wie Galle und Eigelb, an organischen Eisenweißverbindungen es möglich erscheinen lasse, daß diesen die von Pfeiffer der



Eisenverbindung des Blutes zugeschriebene Bedeutung zukomme. A. Capaldi beobachtete auf Eiernährböden nach Nastiukow sehr kümmerliches Wachstum, mit reinem Hämato-gen nach Bunge dagegen keine Wirkung, Ergebnisse, aus denen er schloß, daß das auf Eiernährböden beobachtete Wachstum nicht auf deren Hämato-gen-gehalt zu beziehen sei. A. Cantani versuchte, Sperma und Hodensaft als Nährsub-strat zu verwenden. Es gelang ihm damit eine Weiterzüchtung von Influenzabazillen bis zur 30. Generation. Die Prüfung einer Reihe von Substanzen, die sowohl im Blut, als auch im Sperma vorhanden und somit als Träger der fördernden Wirkung in Be-tracht kamen, hatte folgende Ergebnisse: Unwirksam waren Nukleine und Lezithine, wirksam dagegen Cholesterin, Eieralbumin, Serumalbumin, sowie Transsudatflüssigkeit. Zu ähnlichen auffallenden Resultaten kommt Cantani in einer späteren Arbeit. Hier beobachtete er Förderung des Wachstums der Influenzabazillen durch reines Menschen-serum, Ascitesflüssigkeit, Eidotter, Serumglobulin, Cholesterin, Mucin, Protalbumose, Disalbumose, Protagon, stark mucinhaltige Galle, Oxyhämoglobin und Hämoglobin, sowie Globulin aus Blut, keine Förderung dagegen durch Hämatin, Galle, Milch, Somatose, Nutrose usw. Diese Befunde veranlaßten Cantani, nicht die Farbstoffkomponente, sondern die Eiweißkomponente des Hämoglobins als wirksames Agens zu deuten. Ver-suche mit Zusätzen verschiedener Bakterienarten zum Nährboden endlich führten zu dem Schluß, daß auch den in den Bakterienleibern enthaltenen Albuminkörpern bei Abwesenheit von Blutbestandteilen eine begünstigende Wirkung zuzusprechen sei.

Schon vor dieser zweiten Cantanischen Arbeit, allerdings mit wesentlichen Ab-weichungen von dieser — vor allem sah er ein Wachstum nur auf blutfarbstoffhaltigem Substrat — hatte Grassberger die fördernde Wirkung bestimmter Bakterienarten auf das Wachstum der Influenzabazillen festgestellt, eine Erscheinung, die auch in diesem Zusammenhange bemerkenswert ist und auf die hier daher kurz eingegangen sei. Während der Influenzabazillus auf der Blutagarplatte im allgemeinen winzige, häufig nur mit der Lupe erkennbare Kolonien bildet, beobachtete Grassberger in der Umgebung von Kolonien anderer Bakterien, vor allem Staphylokokken, wenn diese neben den Influenzabazillen auf Blutagarplatten zufällig aufgegangen oder absichtlich ausgesät waren, sogenanntes Riesenwachstum der Influenzabazillen, d. h. die den Staphylokokkenkolonien benachbarten Influenzabazillen-Kolonien wiesen, zum Unter-schied von den winzigen Tautröpfchen der Norm, eine Größe von 1 mm und mehr auf. Auch  $\frac{1}{4}$ -stünd. im Dampftopf sterilisierte, 24 Std. alte Staphylokokkenagarkulturen zu Platten ausgegossen und mit einem Influenzabazillen-Blutgemisch bestrichen, zeigten Riesenwachstum. Weitere Nachprüfungen dieses Versuchs und Versuche, die mit 2 Tage alten Staphylokokkenkulturen angestellt wurden, blieben aber ergebnislos. Die von Grassberger festgestellte Toleranz der Influenzabazillen in Gesellschaft mit Staphylokokken gegenüber Alkaleszensunterschieden wurde bereits erwähnt. Grass-berger suchte weiter die Verhältnisse, unter denen eine Wachstumsbegünstigung der Influenzabazillen durch die Symbiose geschieht, näher zu ergründen. Zu diesem Zwecke angestellte Versuche, bei gleichzeitigem Zusatz von Eisensalzen und Gallenfarbstoffen anstatt Blut zum Nährboden bei Gegenwart fremder Keime eine Züchtung von In-fluenzabazillen vorzunehmen, schlugen fehl. Positive Ergebnisse hatte er hingegen mit alkalischen Lösungen von Himmels Hämato-gen. Er erzielte in Staphylokokken-mischkulturen häufig in eklatanter Weise Riesenwachstum der Influenzabazillen, im Unterschied zu dem ohne Staphylokokken mit Influenzabazillen besäten Platten, die steril blieben. Auch durch Kochen veränderte, bei der spektroskopischen Untersuchung den Methämoglobinstreifen aufweisende Lösungen ließen oft nur bei gleichzeitiger Be-impfung mit Staphylokokken Kolonien der Influenzabazillen auftreten. Den begünsti-genden, von fremden Kolonien auf das Influenzabazillen-Wachstum ausgeübten Einfluß schreibt Grassberger bestimmten diffundierenden Stoffwechselprodukten der Bak-terien zu; er faßt ihn nicht als Summation zweier voneinander unabhängiger Faktoren, also als eine Wirkung sowohl von seiten des Hämoglobins als auch von seiten der bakteriellen Produkte auf die Influenzabazillen auf, sondern er hält es für wahrschein-licher, daß es sich bei der Symbiose um eine Einwirkung von bakteriellen Produkten auf den Blutfarbstoff handele, die dessen erfolgreichere Assimilation durch den In-fluenzabazillus ermöglicht.

In einer zweiten Arbeit prüfte Grassberger zunächst die Angaben von Voges nach. Die günstige Wirkung der Erhitzung des Blutes beruhte nach seiner Meinung nicht auf einer Lösung des Blutfarbstoffs, da bei Verwendung lackfarbenen Blutes ohne Erhitzung ein Rasenwachstum nicht zu erlangen war; auch in der mit dem Erhitzen des Bluts einhergehenden Hämatinbildung könnte eine Erklärung nicht gesucht werden, da auf heißem Agar, den er mit reiner Hämatinlösung versetzte und dann erstarren ließ, abgesehen von einigen Fällen, ein Wachstum der Influenzabazillen ausblieb.

Es ließ sich aber auf Hämatinagar bei gleichzeitiger Impfung mit Staphylokokken konstant ein üppiges Riesenwachstum der Influenzabazillen erzielen. Daraus folger-te

Grassberger, daß diffundierende Stoffwechselprodukte der Bakterien aus dem Hämatin den für das Wachstum der Influenzabazillen günstigen, wenn nicht notwendigen Stoff entwickeln. Den analogen Vorgang stellte er sich durch die Hitzewirkung ausgelöst vor, er faßt also Riesenwachstum bei der Symbiose auf Blutagar und Riesenwachstum auf erhitztem Blutagar als gleichartige Prozesse auf, eine Vermutung, die noch dadurch bestärkt wurde, daß Rasenwachstum, das auf Voges-Agar eingetreten war, trotz Aussaat von Staphylokokken keine weitere Begünstigung erfuhr.

Eine weitere Beanstandung erfuhren die Angaben Cantanis durch Untersuchungen von Ghon und Preyss. Es gelang diesen nicht, auf hämoglobinfreien Nährböden, die sie mit reichlichen Mengen anderer Bakterien bestrichen oder mit blutfreiem Sperma versetzten, eine sichtbare Vermehrung der Influenzabazillen zu erzeugen. Sie erörtern daher die Frage, ob nicht Spuren von Hämoglobin die Cantanischen Ergebnisse vorgetäuscht haben könnten; sie halten es nicht für möglich, durch spektroskopische Untersuchungen den Nachweis der Hämoglobinfreiheit eines Nährbodens zu erbringen, wie Cantani es tut. Auch ihnen erwies sich — wie Grassberger — Hämatin (nach Nencki-Chalfejew) allein als ungeeigneter, bei gleichzeitiger Beimpfung mit fördernden fremden Keimen als geeigneter Zusatz zum Nährboden. Noch bessere Erfolge erzielten sie bei Verwendung des v. Zeynekschen Verdauungshämatins, dessen Analysenreinheit durch v. Zeynek bestätigt wurde, und mit unter bestimmten Bedingungen mit Soda gekochtem Blut — allerdings auch nur in der Symbiose. Den Einfluß der fördernden Keime vermuten sie in chemischen, entweder in den Bakterienleibern enthaltenen, oder durch sie im Nährboden gebildeten Stoffen. Begünstigende Wirkung kam nicht nur lebenden, sondern auch durch  $\frac{1}{4}$ -stünd. Kochen über der Flamme abgetöteten Bakterienaufschwemmungen zu. Wurden Platten mit fördernden Arten beimpft, die nach 24-stünd. Bebrütung gewachsenen Kolonien ausgeschnitten und der Agar nun mit Influenzabazillen besät, so traten in der Umgebung der Ausschnitte Riesenkolonien der Influenzabazillen auf. Aus diesem Grunde hielten Ghon und Preyss irgendwelchen begünstigenden Einfluß der Lebenstätigkeit der fördernden Bakterienarten für ausgeschlossen; als wirksam nahmen sie in hohem Grade diffundierende, bei 100° nicht zerstörbare Stoffe an, die vermutlich organischer Natur waren, da durch Zusatz von gelöster Staphylokokkenasche ein Wachstum der Influenzabazillen nicht erfolgte. Verschiedene von diesem Gesichtspunkte aus geprüfte, möglicherweise in den Bakterienleibern enthaltene Substanzen, wie Milchsäure und Glykogen, waren unwirksam, desgleichen auch Bilirubin, Taurochol, Cholal und Glykocholsäure.

Bei weiterer Nachprüfung der Cantanischen Befunde kommen Ghon und Preyss, zum Teil auf eigene Erfahrungen gestützt, zu der Auffassung, daß seine positiven Resultate auf Agar ohne Blutzusatz auf den Hämatingehalt seines Agars zurückzuführen seien. Sie vermuten in jedem Nähragar einen gewissen, je nach der im Fleisch enthaltenen Blutmenge wechselnden Gehalt an Hämatin. In einer Versuchsreihe, bei der dem Hämatin Hydrazin zugesetzt und so Hämochromogen dargestellt wurde, zeigte sich von 40 Platten auf 5 Wachstum von Influenzabazillen auch ohne Symbiose, ein Befund, der ihnen die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen erscheinen läßt, daß die Begünstigung durch fördernde Bakterienarten auf einer Reduktion des Hämatins beruhen könnte. Weitere Versuche mit Eisensalzen, Blutlaugensalz, Nitroprussidnatrium, pyrophorem Eisen, ameisensauren Salzen, mit Harnstoff bis zur Biuret-bildung erhitztem Eisen — ohne Blutzusatz zum Agar — blieben erfolglos.

Während so Ghon und Preyss die Cantanischen Untersuchungen durchweg zurückweisen, teilte A. Luerssen aus dem Pfeifferschen Institut einige Befunde mit, die sich zum Teil mit den Angaben Cantanis deckten. Während Hämalbumin und auch Chlorophyll sich als unwirksam erwiesen, gelang die Züchtung von Influenzabazillen auf blutfreiem Agar in Symbiose mit gewissen Bakterienarten. Neisser endlich gelang auf blutfreiem Agar, trotz Verwendung einer Reihe von verschiedenen Stämmen, eine Kultur des Influenzabazillus im allgemeinen nicht — auffallenderweise trat aber in Gesellschaft mit Xerosebazillen während vieler Generationen feststellbares Wachstum der Influenzabazillen ein.

### Eigene Versuche.

Die zum Teil recht erhebliche Divergenz der zitierten Befunde und Auffassungen gab Veranlassung, der Frage der Bedeutung des Blutes für den Pfeifferschen Influenzabazillus nachzugehen. Auch erschien eine Weiterführung der Pfeifferschen Versuche, namentlich in Anbetracht der neueren Ergebnisse der Forschung über den Blutfarbstoff, angebracht.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden mit 3 Influenzabazillen-Stämmen angestellt, die von verschiedenen Grippefällen ge-

wonnen waren und in jeder Beziehung typisches Verhalten zeigten, vor allem nie auf gewöhnlichem Agar ohne Blutzusatz wuchsen. Ueber die Technik der Versuche selbst ist folgendes zu bemerken: Die Substanzen, deren Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen festgestellt werden sollte, wurden in verschiedenen verdünnten, neutralen oder schwach alkalischen Lösungen mit verflüssigtem, 1 $\frac{1}{2}$ ,-proz. Fleischwasseragar von leicht alkalischer Reaktion und einer Temperatur von 42° C versetzt und die Mischung dann zu Platten ausgegossen. Der erstarrte Agar wurde mittels Platinöse mit Influenzabazillen-Reinkultur so bestrichen, daß neben dicht bewachsenen Zonen reichlich Einzelkolonien auftraten. Bei der Prüfung, ob bei Zusatz einer zu untersuchenden Substanz ohne die fördernde Gegenwart fremder Bakterienarten eine sichtbare Vermehrung der Influenzabazillen möglich sei, fanden nur solche Platten Berücksichtigung, die frei von jeder Verunreinigung waren. Sollte die Wirkung fördernder Keime festgestellt werden, so wurden die Platten mit diesen nach der Beimpfung mit Influenzabazillen mittels eines die Influenzabazillen-Impffläche quer durchschneidenden Impfstrichs bestrichen. Wegen der Launenhaftigkeit des Influenzabazillus, die bei negativen Ergebnissen zu vorsichtiger Deutung mahnte, wurden im allgemeinen Schlüsse erst nach mehrfacher Wiederholung des Versuchs gezogen.

In einer ersten Versuchsreihe wurde die Wirksamkeit der einzelnen Bestandteile des Blutes geprüft. Reines Serum, ebenso ein Aetherextrakt aus sorgfältig gewaschenen Blutkörperchen — es handelte sich in diesem Fall um Pferdeblut — erwiesen sich als unwirksam. Alsdann wurde **reines Oxyhämoglobin** dargestellt, und zwar nach der am Hüfnerschen Institut üblichen Methode.

Frisches, durch Schütteln mit Glasperlen defibriniertes Pferdeblut wurde mittels Zentrifuge 3mal sorgfältig mit Kochsalzlösung gewaschen, der Blutkörperchenbrei, in wenig destilliertem Wasser von 37° gelöst, auf 0° abgekühlt, im Scheidetrichter mit der Hälfte des Volumens reinen, abgekühlten Aethers versetzt, im Kühlraum im Verlauf eines Tages mehrmals durchgeschüttelt und dann einen weiteren Tag ruhig stehen gelassen. Die sich dabei absetzende klare, untere, das Oxyhämoglobin in wässriger Lösung enthaltende Schicht wurde nun vorsichtig in ein Becherglas abgelassen, mittels Nutsche und Saugpumpe abfiltriert, vom Aether mittels eines durchgetriebenen Luftstroms befreit, auf 0° abgekühlt und mit  $\frac{1}{4}$  ihres Volumens reinen, gleichfalls auf 0° abgekühlten Alkohols sehr langsam versetzt. Dieses Gemisch wurde in einer Kältemischung von Eis und Viehsalz im Frigo gehalten und der dabei nach 48 Std. entstandene hellrote Kristallbrei durch mehrmalige Umkristallisation in Alkohol und Wasser gereinigt.

Mit diesen ganz frischen, noch feuchten Kristallen wurden Lösungen von Oxyhämoglobin hergestellt, die im Spektroskop die typischen Streifen darboten, diese durch eine Berkefeld-Kerze filtriert, mit verflüssigtem, auf 42° abgekühltem Agar gemischt und zu Platten ausgegossen. Die mit Influenzabazillen beimpften Platten wiesen in demselben Verhältnis und ganz in derselben Weise wie die gleichzeitig zur Kontrolle besäten, Gesamtblut enthaltenden Agarplatten, die für den frischen Blutagar charakteristischen allerfeinsten Kolonien auf. Auch in der Umgebung von Staphylokokkenkolonien zeigte sich dasselbe Bild des Riesenwachstums, wie auf Blutagarplatten. Ein anderer Teil des Kristallbreis wurde zunächst auf Tonplatten von Schleicher und Schüll und dann 24 Std. im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, pulverisiert und schließlich über siedendem Toluol im Wasserstoffstrom getrocknet und in Glaskugeln unter Wasserstoff aufbewahrt. Schon nach der Trocknung trat indes eine bräun-

liche Färbung des Pulvers auf, die sich spektroskopisch als durch Methämoglobin hervorgerufen erwies. Mit Lösungen dieses Pulvers hergestellte Agarplatten zeigten dieselben Verhältnisse wie die Oxyhämoglobinagarplatten. Im 1. Versuch beobachtetes scheinbar etwas üppigeres Wachstum der Influenzabazillen trat bei Wiederholung nicht wieder auf.

Nachdem so die Wirksamkeit des Oxyhämoglobins festgestellt war, wurden einige andere Blutfarbstoffpräparate, in erster Linie Methämoglobin, Hämatin, Hämin und Hämatoporphyrin geprüft.

**Methämoglobin** wurde bereitet, indem konzentrierte, wässrige Pferdeoxyhämoglobininlösung mit 10-proz. Lösung von Ferricyankalium bis zur tiefen Braunfärbung und dann noch mit einem geringen Ueberschuß desselben Reagens versetzt wurde. Diese Lösung wurde auf 0° abgekühlt, mit dem 4. Teil ihres Volumens ebenso kalten, 90-grad. Alkohol gemischt und 2 Tage in einer Kältemischung von Viehsalz und Eis stehen gelassen, bis sich reichlich atlasglänzende Kristalle bildeten, die im Wasser 2mal umkristallisiert wurden.

Auf Agarplatten, die durch Mischen mit bakterienfrei filtrierter Methämoglobininlösung hergestellt waren, zeigten sich nach Beimpfung mit Influenzabazillen und Bebrütung, dort, wo ausschließlich Influenzabazillen gewachsen waren, feine, in der Nähe von Verunreinigungen größere Kolonien. Sichere Unterschiede in dem Verhalten der Influenzabazillen gegenüber Oxyd- und Methämoglobin konnten somit nicht nachgewiesen werden.

Die dargestellten **Hämatinpräparate** waren das v. Zeynek angegebene, sogenannte Verdauungs- oder  $\alpha$ -Hämatin und das durch Kochen mit Kalilauge bereitete Hämatin nach Hamsik.

Zur Darstellung des Verdauungshämatins wurde 5-proz. Lösung des für die obigen Versuche gewonnenen, bereits ca. 1 Monat aufbewahrten Oxyhämoglobins mit Salzsäure bis zu einem Gehalt von 0,2—0,3 Proz., dann mit in 0,4-proz. Salzsäure gelösten Pepsin versetzt und bei 37° der Verdauung überlassen. Nachdem die ursprünglich dünnflüssige Blutfarbstofflösung zunächst dickflüssige, dann wieder dünnflüssige Beschaffenheit angenommen hatte, wurde sie mit 0,4-proz. Salzsäure stark verdünnt. Der entstandene braune Niederschlag wurde mit 1-proz. Salzsäure verrührt und mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und getrocknet.

Die Bereitung des Hämatins nach Hamsik geschah, indem 1 l Rinderblut in einer Porzellanschale mit  $\frac{1}{2}$  l 40-proz. wässriger Kalilauge versetzt und 5 Std. unter beständigem Ersatze des verdampfenden Wassers auf freiem Feuer gekocht, nach der Erkaltung filtriert und nun das Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert wurde. Der sich dabei bildende Niederschlag wurde mit warmem Wasser gewaschen, alsdann getrocknet und pulverisiert.

Die amorphen, schwarzgrünen Pulver wurden in schwach alkalischer, 0,5-proz. Kochsalzlösung gelöst, mit dieser verschieden verdünnten Lösung dann verflüssigte Nähragarröhrchen versetzt und zu Platten ausgegossen. Die erhobenen Befunde waren für das Hamsiksche, wie für das v. Zeyneksche Hämatin die gleichen. Die mit Influenzabazillen-Reinkulturen beimpften Hämatinplatten wiesen bei mehrfacher Wiederholung des Versuchs kein Wachstum auf. Wurden die Platten außer mit Influenzabazillen gleichzeitig mit einem Stamm beimpft, dessen fördernder Einfluß sich in früheren Versuchen ergeben hatte, in diesem Fall eine Subtilisart, so traten in der Nähe von dessen Impfstrich mittelgroße Kolonien des Influenzabazillus auf.

Das **Hämin** wurde nach Willstätter und Fischer gewonnen. Mit etwas Kochsalz versetzter Eisessig wurde zum Sieden erhitzt und während  $\frac{1}{2}$  Std. unter lebhaftem Rühren mittels eines Rührers mit Oxyhämoglobininlösung langsam versetzt, die tiefbraune Lösung nach 10 Min. in schwachem Sieden gehalten und während  $\frac{1}{2}$  Std. mit Wasser (1:3) verdünnt. Die nach 1 Tage abgeschiedenen Kristalle wurden

abfiltriert und mit Wasser, Essigsäure, Alkohol und Aether gewaschen. Eine Umkristallisation wurde, entsprechend den Angaben Willstätter und Fischers, denen zufolge das Präparat einwandfrei rein ist, nicht ausgeführt.

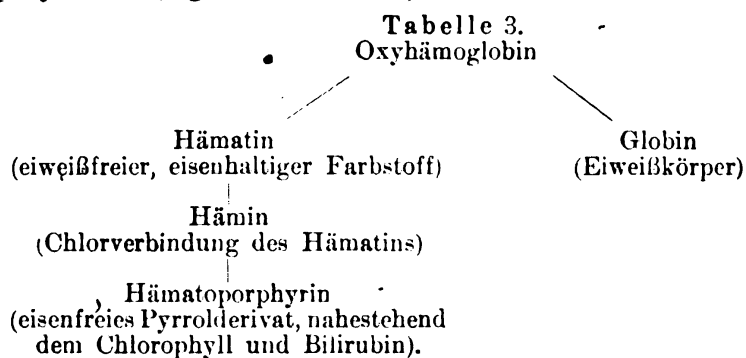
Die mit Hämin angestellten Versuche unterschieden sich in keiner Weise in ihren Ergebnissen von denen mit den Hämatinpräparaten erzielten. Während auf Häminagarplatten die Influenzabazillen-Reinkulturen bei Abwesenheit fördernder Bakterienarten nicht gediehen, bildeten sich bei deren Gegenwart mittelgroße Kolonien.

Hämatoporphyrin endlich wurde nach zwei Methoden bereitet; nach der alten Methode von Hoppe-Seyler wurde Pferdeblut mit reiner, konzentrierter Schwefelsäure übergossen, erwärmt und alsdann die rotgrün gefärbte Flüssigkeit in Wasser eingegossen, die entstehenden braunen Flocken gesammelt, gewaschen und getrocknet.

Nach der zweifellos exakteren Methode von Willstätter und Fischer wurden Häminkristalle in einer Stöpselflasche mit Eisessig-, Bromwasserstoff (spez. Gew. 1,29) geschüttelt, die Lösung nach 1-täg. Stehen in Wasser eingetragen, filtriert und mit konzentrierter Natriumazetatlösung gefällt. Die ausgeschiedenen braunen, violetten noch eisenhaltigen Flocken wurden in verdünnter Natronlauge gelöst, durch Filtrieren vom Eisenhydroxyd befreit, durch Ansäuern mit Essigsäure aschefrei gemacht, schließlich gewaschen und über Kalilauge getrocknet.

Die beiden so erhaltenen Präparate wurden in schwach alkalischer, 0,5-proz. Kochsalzlösung aufgelöst und, wie im Vorhergehenden, Agarplatten damit gegossen. Trotz wiederholten Versuchen bei gleichzeitiger Beimpfung der Platten mit sicher fördernden anderen Bakterienstämmen, die ungehemmtes Wachstum zeigten, ließ sich eine Züchtung der Influenzabazillen nie erreichen.

Es fragt sich, wie die bisher angeführten Versuche zu bewerten sind. Kurz nochmals zusammengefaßt, war Koloniebildung der Influenzabazillen erfolgt auf Nähragar, der versetzt war mit reiner Oxyhämoglobin- und Methämoglobinslösung, es war ferner ein Wachstum der Influenzabazillen erzielt worden mit Hämatin und Häminpräparaten — allerdings nur in Symbiose — unmöglich dagegen war die Züchtung der Influenzabazillen mit Hämatoporphyrin. (Vgl. Tab. 3 u. 4.)



Zunächst ist als das Agens im Blut, das die Vermehrung der Influenzabazillen zu fördern vermag, da die übrigen Bestandteile des Blutes keine Wirksamkeit aufwiesen, der rote Blutfarbstoff festzustellen. Es gelingt auf dem eiweißhaltigen Oxyhämoglobin, das sich aus Hämatin und Globin zusammensetzt, und dem isomer aufgebauten Methämoglobin die Züchtung der Influenzabazillen, ohne daß gleichzeitig die fördernde Wirkung fremder Bakterienarten nötig wäre.

Wurde aus dem Hämoglobin der Eiweißkörper, das Globin, entfernt, wurden nicht eiweißhaltige Bestandteile des Hämoglobins, das eisenhaltige Pyrrolderivat Hämatin und dessen Chlorverbindung Hämin, verwendet, so trat ebenfalls Wachstum der Influenzabazillen ein, allerdings nur in der Umgebung fremder fördernder Kolonien, ein Umstand, der, wie schon erwähnt, für das Hämatin schon von Grassberger, Ghon und Preyß festgestellt wurde und der im Gegensatz steht zu den Ergebnissen Cantanis, der nicht im Farbstoffrest, sondern im Eiweißkörper des Blutfarbstoffs das wirksame Prinzip erblickte.

Da trotz zahlreichen, mit Stämmen der Sammlung und sicher fördernden Bakterienarten vorgenommenen Prüfungen auf dem verwendeten Nähragar ohne Blutzusatz in keinem Falle ein Wachstum der Influenzabazillen beobachtet werden konnte, und eine Züchtung der Influenzabazillen, ob in oder ohne Symbiose, nur möglich war, auf Nährböden, die die eisenhaltige Farbstoffkomponente enthielten, so ist in diesen Versuchen für ein Gedeihen der Influenzabazillen die Gegenwart der eisenhaltigen Blutfarbstoffkomponente als unumgänglich nötig zu bezeichnen. Die Prüfung der Rolle des Globins, die naheliegt, da die Influenzabazillen auf globinhaltigem Blutfarbstoff auch ohne Symbiose, auf globinfreiem dagegen nur in Symbiose wachsen, ebenso wie die Prüfung der Bedeutung der Symbiose überhaupt, auf deren Ursachen hier nicht eingegangen werden soll, ist in Angriff genommen.

Von Wichtigkeit war die Beantwortung der zuerst von Pfeiffer aufgeworfenen, aber bisher noch nicht mit Sicherheit gelösten Frage, ob tatsächlich die Wirksamkeit des Blutfarbstoffs von dessen Eisengehalt abhängt. Das Ausbleiben des Influenzabazillenwachstums bei Verwendung des eisenfreien Hämatoporphyrins als Zusatz zum Nährboden bestätigte in der Tat, daß die fördernde Wirkung an das Eisen gebunden sei.

Andere, dem Hämatoporphyrin nahestehende eisenfreie Pyrrolderivate, wie reines Bilirubin (Merck), Chlorophyll, endlich das Pyrrol (Kahlbaum) erwiesen sich dementsprechend als gänzlich unwirksam.

Von Interesse war ferner, ob das üppige Wachstum, das die Influenzabazillen auf Levinthal-Agar zeigen, auch auf dessen Gehalt an rotem Blutfarbstoff beruhen. Es wurde daher mit reiner, aus frisch hergestellten Oxyhämoglobinkristallen bereiteten Hämoglobininlösung an Stelle von Blut, sonst ganz nach der Vorschrift Levinthals, der von ihm angegebene Agar bereitet. Es zeigte sich darauf dieselbe Ueppigkeit des Wachstums der Influenzabazillen, wie auf dem mit Gesamtblut hergestellten Levinthal-Agar, ein Beweis dafür, daß auch hier die Wirksamkeit vom Hämoglobingehalt abhängt. Desgleichen ließ sich auch auf aufgekochtem Methämoglobinagar-Gemischen üppiges Wachstum erzielen, nicht dagegen mit globinfreiem Hämatin und Hämin. Danach scheint es auch hier noch auf das Globin anzukommen. Ueber die Ursachen des günstigen Einflusses, den der Vorgang des Aufkochens auf das Hämoglobinagargemisch ausübt, läßt sich einstweilen Bestimmtes nicht aussagen, da die Vorgänge bei der Hitze-koagulation des Hämoglobins keineswegs aufgeklärt sind. Es wird diese Frage weiter unten noch einmal kurz erörtert werden.

Ungeklärt waren noch die Einflüsse, auf die die Bedeutung des

Hämoglobins oder seiner eisenhaltigen Bestandteile für den Influenzabazillus zurückzuführen waren. In Betracht kam hier zunächst die auf dem Eisengehalt beruhende sauerstoffspeichernde Fähigkeit des Hämoglobins, die Eigenschaft also, durch die die roten Blutkörperchen im tierischen Organismus den Sauerstofftransport in die Gewebe bewerkstelligen.

Daß die Influenzabazillen überhaupt die Fähigkeit besitzen, den Sauerstoff aus dem Oxyhämoglobin abzuspalten, zeigte sich bei spektroskopischen Untersuchungen, durch die nachgewiesen werden konnte, daß eine Reduktion des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin durch die Influenzabazillen stattfindet. Oxyhämoglobinhaltiger, vorher luftfrei ausgekochter Agar in hoher Schicht, der vor der Beimpfung, sowie unbeimpft nach der Bebrütung bei 37° spektroskopisch die Streifen des Oxyhämoglobins aufwies, zeigte nach der Beimpfung mit Influenzabazillen und Bebrütung bei 37°, nach der sich oberflächlich sehr reichliche, in der Tiefe spärliche Kolonien der Influenzabazillen entwickelten, in der Tiefe, an den Stellen also, wo die Reduktion des Oxyhämoglobins nicht durch den Luftsauerstoff rückgängig gemacht werden konnte, makroskopisch einen deutlichen Farbumschlag ins Rotviolett, im Spektroskop den Streifen des reduzierten Hämoglobins. Daß in der Tiefe unter sonst völlig anaëroben Verhältnissen ein Wachstum der Influenzabazillen erfolgte, ist wohl nur dem locker gebundenen Sauerstoff des Oxyhämoglobins zuzuschreiben. Wurden nämlich mit Oxyhämoglobin oder lackfarbenem Blut gemischte und mit Influenzabazillen beimpfte Platten im Vakuum bebrütet, die Versuche also mit sauerstofffreiem Hämoglobin bei fast negativem Sauerstoffdruck vorgenommen, so blieb ein Wachstum der Influenzabazillen aus. Bestätigt werden konnte der von Pfeiffer vorgenommene Versuch mit Kohlenoxydhämoglobin, der ergab, daß auf kohlenoxydhämoglobinhaltigem Nährboden bei völligem Fehlen von Luftsauerstoff ein Wachstum von Influenzabazillen nicht zu erzielen ist, wohl aber dann, wenn der den Nährboden umgebenden Kohlenoxydatmosphäre geringe Mengen von Luftsauerstoff beigemischt waren. Es ist aber zu betonen, daß dieses Versuchsergebnis zwar als Beweis dafür zu betrachten ist, daß zum Wachstum der Influenzabazillen wenigstens Spuren von Sauerstoff nötig sind. Es kann aber daraus nicht die Folgerung gezogen werden, wie dies Pfeiffer tut, daß die Fähigkeit des Hämoglobins, lockere Verbindungen mit dem Luftsauerstoff einzugehen, für die Influenzabazillen nicht in Betracht kommen könne. Bekanntlich müssen bei Gegenwart, wenn auch nur geringer Mengen von Sauerstoff, also auch bei der von Pfeiffer beschriebenen und von mir wiederholten Versuchsanordnung infolge Massenwirkung neben dem Kohlenoxydhämoglobin stets ganz bestimmte Mengen von Oxyhämoglobin vorhanden seien, auf deren Anwesenheit, selbst wenn es sich nur um Spuren handelte, ja das Influenzabazillenwachstum zurückgeführt werden könnte.

Trotzdem sprechen aber gegen die ausschlaggebende Bedeutung der lockeren Sauerstoffbindung durch das Hämoglobin die schon angeführten, ebenfalls positiv ausgefallenen Versuche mit Methämoglobin, das nur festgebundenen Sauerstoff enthält, sowie mit dem isomer gebauten  $\alpha$ -Hämatin und Hämin. Berührt seien an dieser Stelle,



wenn auch nur unter Vorbehalt gedeutet, auch Versuche mit dem Hämocyanin, einem kupferhaltigen Proteid, das respiratorische Bedeutung besitzt und bei Mollusken die Stelle des eisenhaltigen Hämoglobins vertreten soll (Cohnheim, Frédéricq). Da ihm dieselbe Eigenschaft, wie dem Hämoglobin, Sauerstoff locker zu binden, zugeschrieben wird, hätte man, wenn es auf diese Fähigkeit wirklich ankäme, erwarten können, daß das Hämocyanin das Hämoglobin auch in seiner Wirkung auf den Influenzabazillus zu ersetzen imstande gewesen wäre. Versuche jedoch, Influenzabazillen auf Nähragar, der von Weinbergschnecken gewonnenes Hämocyaninblut enthielt (Cuénot), zu züchten, schlugen fehl. Dabei kommt eine Desinfektionswirkung von etwa frei gewordenen Kupferionen nicht in Betracht, da Kontrollversuche mit anderen Bakterienarten, die wie auch sonst ebenfalls an dieser Stelle ausgeführt wurden, ungehemmtes Wachstum ergaben.

Pfeiffer betrachtete nun das Hämoglobin als assimilierbaren Nährstoff, bei dem dessen Eisengehalt für den Influenzabazillus dieselbe Rolle spielen sollte, wie eisenhaltige Lösungen beispielsweise für *Crenothrix polyspora*, die nur auf solchen zu gedeihen vermag. Indessen liegen aber für eine Assimilation des Gesamthämoglobins — es handele sich denn um minimale Mengen — durch den Influenzabazillus, die sich in einem Verbrauch von Hämoglobin äußern könnte, keine Anhaltspunkte vor. Ein Abbau des Hämoglobins, etwa eine Abspaltung des Eisens durch die Influenzabazillen, ist ferner unwahrscheinlich. Nach Untersuchungen Kämmerers vermögen Bakterien im allgemeinen tiefergreifende Umwandlungen des Blutfarbstoffs nicht vorzunehmen. Gegen die Fäulnis erweist sich das Hämoglobin als äußerst resistent. Bei der Verdauung entsteht als Endprodukt nur das Hämatin. Spektroskopische Untersuchungen von mit Influenzabazillen bewachsener Blutbouillon ergaben keine niederen Abbauprodukte als das reduzierte Hämoglobin. Alles das, ferner die von verschiedenen Untersuchern angestellten aber negativ ausgefallenen Versuche mit Eisensalzen, die eine Bestätigung für Pfeiffers Vermutung bilden sollten, lassen diese Pfeiffersche Auffassung als sehr unwahrscheinlich erscheinen.

Die Ueberlegung lag daher nahe, ob nicht diejenige Eigenschaft des Hämoglobins, die bei Gegenwart von Peroxyden, z. B. Wasserstoffsperoxyd, die Guajakreaktion bewirkt, also die katalytische sauerstoffaktivierende Funktion des Hämoglobins, für den Influenzabazillus von Bedeutung sein könnte. Diese Wirkung ist ebenfalls an den Eisengehalt des Hämoglobins gebunden, von der ja auch der Einfluß auf den Influenzabazillus abhängt. Während die Eigenschaft, Gase und besonders Sauerstoff locker zu binden, nur dem Hämoglobin bzw. dem Hämochromogen zukommt, geben als Ausdruck für ihre katalytische, sauerstoffübertragende Fähigkeit das Oxyhämoglobin, Methämoglobin, das gekochte Hämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Hämatin, Hämin usw. die Guajak- oder Benzidinreaktion bei Gegenwart von Wasserstoffsperoxyd, nicht aber die eisenfreien Blutfarbstoffderivate, in erster Linie das Hämatoporphyrin (Batelli und Stern, Schaer, Moitessier, Buckmaster, Oppenheimer, v. Fürth und Czylarz, Bertrand). Die Influenzabazillen waren züchtbar bei Verwendung von Oxyhämoglobin, Methämoglobin, gekochtem Hämoglobin, Hämatin, Hämin, nicht kultivierbar dagegen auf Hämatoporphyrin u. a. eisenfreien Pyrrolderivaten. Mit anderen Worten, es gingen Guajak- bzw. Benzi-



dinreaktion und Influenzabazillen-Wachstum parallel: wo katalytische Wirkung des Blutfarbstoffs oder seiner Derivate, da Influenzabazillen-Wachstum, wo keine Sauerstoffaktivierung, da kein Wachstum der Influenzabazillen.

Tabelle 4.

	Fähigkeit der lockeren Sauerstoffbindung	Guajakreaktion bei Gegenwart von $H_2O_2$	Influenzabazillenwachstum	
			in Symbiose	ohne Symbiose
Oxyhämoglobin	+	+	+	+
Methämoglobin	—	+	+	+
Kohlenoxydhämoglobin	—	+	+	+
Hämatin (eiweißfrei)	.	+	+	—
Hämin (Chlorverbindung des Hämatin)	.	+	+	—
Hämatoporphyrin (eisenfrei)	—	—	—	—
Hämocyanin (kupferhaltiges Proteid)	+	—	—	—
Bilirubin	—	—	—	—
Chlorophyll	—	—	—	—
Pyrrol	—	—	—	—

Nach dieser Richtung von Belang sind auch Befunde Davys, der, allerdings ohne auf diesen Zusammenhang aufmerksam zu machen, gefunden hatte, daß noch Blutverdünnungen von 1:200 000 die Züchtung der Influenzabazillen ermöglichten, einer Konzentration also, bei der in der Regel auch die Guajak- und Benzidinreaktion gerade noch positiv ausfällt. Es wurde schon erwähnt, daß es auf dem für meine Versuche verwendeten Nähragar nie gelang, eine Kultur der Influenzabazillen ohne Blut, selbst bei Symbiose, zu erzielen. Die Prüfung des für die Herstellung des Nähragars verwendeten Fleischwassers ergab in durchaus entsprechender Weise stets negative Guajak- oder Benzidinreaktion. Von Wichtigkeit wäre daher auch, wenn von solchen Untersuchern, die auf gewöhnlichem Agar ohne Zusatz von Blut unter bestimmten Bedingungen ein Wachstum der Influenzabazillen beobachten — erinnert sei an die häufigen Angaben darüber in der Literatur — die Guajak- oder Benzidinreaktion des benützten Fleischwassers vorgenommen würde, um die Möglichkeit des Wachstums der Influenzabazillen bei positiver Reaktion ausschließen zu können.

Durch Fließpapierfilter völlig klar und farblos filtrierter Levinthal-Agar gab bei gleichzeitigem üppigen Rasenwachstum der Influenzabazillen stets positive Benzidinreaktion. Entscheidend für die Güte des Levinthal-Nährbodens ist zweifellos das Aufkochen des Blut- bzw. Hämoglobin-Agar-gemisches. Wird Blut allein aufgekocht, abgekühlt und nun 42° warmer, flüssiger Agar zugefügt, so tritt auf derartig angefertigten Platten nie dasselbe üppige Wachstum wie auf Levinthal-Agar ein. Nimmt man die katalytische Wirkung des Hämoglobins als das Wesentliche für den Influenzabazillus an, so wäre daran zu denken, ob nicht beim Kochen und der Koagulation des Hämoglobins entstehende Hämatin-Globin-Agarkomplexe für den Influenzabazillus besonders günstige Oberflächenwirkungen zu entfalten imstande wären.

Der Ausfall der quantitativen Benzidinreaktion (Madelung) war bei der vergleichenden Prüfung von flüssigem Levinthal-Agar und gewöhnlichem Blutagar bei ersterem schwächer als bei letzterem. Hier fehlte demnach quantitativ ein Parallelismus zwischen der Stärke der Benzidinreaktion und der Ueppigkeit des Influenzabazilluswachstums, ein Umstand, der indes erklärlich ist, wenn man berücksichtigt, daß der quantitative Verlauf der in der Influenzabazillenzelle sich abspielenden katalytischen Vorgänge kaum mit dem der im Reagenzglase verlaufenden Guajakreaktion verglichen werden kann.

Endlich hatte sich in meinen Versuchen auch das Hämozyanin als unwirksam erwiesen, dem zwar respiratorische Eigenschaften zukommen, das aber keine Guajakreaktion bei Gegenwart von Peroxyden auszulösen vermag (Kobert u. a.). Ein weitgehendes Hand-in-Handgehen von Guajakreaktion und Wachstumsfähigkeit der Influenzabazillen muß aus allen diesen Punkten zugegeben werden.

Die Bedeutung des Sauerstoffs für den Influenzabazillus ist bekannt. Sie ging auch aus Versuchen, die im Vorhergehenden schon angeführt wurden, hervor, die zeigten, daß ein Gedeihen der Influenzabazillen bei gänzlichem Fehlen des Sauerstoffs nicht möglich ist. Zwar genügen, um die Influenzabazillen am Leben zu erhalten, Spuren von Sauerstoff. Das zeigten vor allem Versuche, die mit dem neuerdings von Ungermann angegebenen Verfahren angestellt wurden, das diesem gestattete, empfindliche und kurzlebige Aërobier, wie beispielsweise Gono- und Meningokokken, unter sauerstoffarmen Verhältnissen mehrere Monate zu konservieren. Nach Ungermanns Methode wurde steril entnommenes Kaninchenserum bei 56° erhitzt, mit Paraffin überschichtet und nun mit Influenzabazillen beimpft. Mikroskopisch zeigten die Röhrchen kaum nennenswerte Vermehrung der Influenzabazillen; diese blieben aber in bisherigen Versuchen bis zu 2 Mon. lebensfähig und überimpfbar, unter der Voraussetzung aber nur, daß das Serum wenigstens Spuren von Blut oder Hämoglobin enthielt. Diese Methode dürfte sich im übrigen für die sonst so schwierige Konservierung der Influenzabazillen ausgezeichnet bewähren.

Da nun zum Wachstum der Influenzabazillen Sauerstoff unbedingt nötig und ohne Sauerstoff eine Kultur nicht zu erzielen ist, da auch ohne Hämoglobin die Influenzabazillen nicht züchtbar sind, so wäre eine Wechselwirkung zwischen Hämoglobin und Sauerstoff auf die Influenzabazillen sehr wohl denkbar, und zwar so, daß das Hämoglobin den Sauerstoff für gewisse, möglicherweise mit den Wachstumsvorgängen zusammenhängende Oxydationsvorgänge der Influenzabazillenzelle zu aktivieren hätte. Es könnte sich vielleicht um die Uebernahme einer Funktion durch das Hämoglobin handeln, die die Zelle des Influenzabazillus, im Gegensatz zu den übrigen nicht „hämoglobinophilen“ Bakterienrassen, nicht besitzt.

Oppenheimer teilt in seinem Lehrbuch, „Die Fermente“, die verschiedenen biologischen Katalysatoren, die die Oxydationsprozesse der Zelle zu beschleunigen vermögen, in 2 Hauptgruppen ein, nämlich die eigentlichen Oxydasen oder Aëroxydasen und die Oxydoredukasen oder Hydroxydasen. Erstere aktivieren den molekularen Luftsauerstoff, der an sich die allermeisten der Stoffe, die im Tierkörper einer Oxydation unterliegen, nicht anzugreifen imstande ist — entweder direkt (echte oder direkte Oxydasen) oder indirekt bei Gegenwart von Peroxyden (Peroxydasen). Zu diesen gehört seiner Funktion nach der eisenhaltige rote Blutfarbstoff.

Man könnte also annehmen, daß die vermutete Lücke im Zellchemismus des Influenzabazillus, die das Hämoglobin auszufüllen vermag, im Gebiete der Oxydasen zu suchen wäre.

Es lag nun nahe, die Fermenttätigkeit der Influenzabazillen auch in bezug auf die Oxydoredukasen oder Hydroxydasen zu untersuchen, wodurch möglicherweise Aufschluß über Sauerstoffbedürfnis und Sauerstoffverbrauch erhalten werden konnte. Diese 2. Gruppe, die Oxydoredukasen, aktivieren nach Oppenheimer nicht den freien oder an Peroxyde locker gebundenen, sondern den fest verankerten Sauerstoff, z. B. des Wassers (Hydroxydasen): Zu ihnen gehören das Schardinger-Ferment, das bei der Reduktion von Farbstoffen, z. B. Methylenblau, bei Gegenwart von Aldehyden eine Rolle spielt, und die bei Bakterien und Pflanzen vermuteten Fermente, durch die die Reduktion des Methylenblaus auch ohne Gegenwart von Aldehyden bewerkstelligt wird. Diese Katalysatoren haben zunächst reduzierende Wirkung; indessen veranlassen sie gleichzeitig die Bindung des freigemachten Sauerstoffs; sie oxydieren beispielsweise bei der Schardinger-Reaktion das Aldehyd (Oxydoredukasen). Die Vorgänge sind jedoch kompliziert und vielfach ungeklärt; z. B. nimmt Heffter an, daß bei der Reduktion des Methylenblaus durch Pflanzen keine Fermente, sondern Sulfhydrylgruppen beteiligt sind. Hierauf einzugehen, liegt nicht im Rahmen dieser Versuche.

Die Fähigkeit vieler Bakterienarten, Farbstofflösungen zu reduzieren, ist seit langem bekannt. Hahn hatte den Nachweis geführt, daß der mit der Buchner-Hahnschen Methode aus Hefezellen gewonnene Preßsaft Methylenblau reduziert, daß diese Wirkung also an die Leibes substanz der Hefezelle gebunden ist. Unter anderem prüften Cathcart und Hahn die reduzierenden Wirkungen von Bakterien. Sie stellten fest, daß diese wahrscheinlich hauptsächlich ebenfalls von der Zelltätigkeit abhängt und durch einen, nur auf bestimmte Reize hin abgesonderten, enzymartigen Körper ausgeübt wird. Die Prüfung der Reduktion von Methylenblau durch Influenzabazillen wurde nach der Methode von Cathcart und Hahn mittels Bakterien suspensionen vorgenommen.

Auf Levinthal-Agar wurden in Kolle-Schalen Massenkulturen von Influenzabazillen hergestellt, mittels Kochsalzlösung abgeschwemmt und mittels Zentrifuge bis zu negativer Benzidinreaktion der überstehenden Flüssigkeit gründlich gewaschen, mehrere Reihen von kleinen Röhrchen mit Suspension von Influenzabazillen in Kochsalzlösung und Methylenblaulösung in gleichen Mengen gefüllt, dann mit verschiedenen Zusätzen, von denen ein Teil schon in den Versuchen von Cathcart und Hahn einen fördernden Einfluß auf die Reduktion des Methylenblaus gezeigt hatten, versetzt und im Wasserbad bei 45° C beobachtet. Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich kurz folgendermaßen zusammenfassen:

Während gründlich gewaschene, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Influenzabazillen ohne jeden Zusatz auch stark verdünntes Methylenblau bei mehrtägiger Beobachtungsdauer nicht zu entfärben vermochten, trat eine Reduktion ein bei Zusatz von gewöhnlichem Nähragar (mit negativer Benzidinreaktion des verwendeten Fleischwassers), von Blutagar, von Levinthal-Agar, Bouillon und Fleischwasser nach etwa gleicher Versuchsdauer; raschere Entfärbung zeigte sich nach Zusatz von hämoglobinfreiem Kaninchen- und Menschenserum, sowie auch bei Gegenwart von Cholesterin (Merck); keine

Veränderung des Methylenblaus wurde beobachtet bei Zusatz von Wasseragar (mit 0,5 Proz. NaCl, ohne Pepton und Fleischwasser), Peptonwasser, reinem Oxyhämoglobin und Hämatin. Kontrollen ohne Suspension, die nur Methylenblau und die verschiedenen Zusätze enthielten, zeigten keine Entfärbung. Gleichzeitig vorgenommene Versuche mit Staphylokokken ergaben dieselben Verhältnisse; nur trat bei den Staphylokokken als einziger Unterschied von den Influenzabazillen schon in reiner Kochsalzlösung ohne Zusatz eine Reduktion ein.

Ohne auf die Deutung der Einzelheiten dieser Versuche an dieser Stelle näher einzugehen, sei nur festgestellt, daß der Influenzabazillus Funktionen besitzt, die fest gebundenen Sauerstoff zu verwerten vermögen, die aber, wie aus den Versuchen hervorgeht, unabhängig sind von der Gegenwart des Hämoglobins. Daß dieser Sauerstoff aber nicht von ausschlaggebender Bedeutung für das Wachstum der Influenzabazillen sein kann, ging aus Züchtungsversuchen von Influenzabazillen auf Agarplatten hervor, die mit Methylenblau und Malachitgrün in verschiedenen Verdünnungen (1:1000—1:1 Million) versetzt worden waren, und die, trotz gleichzeitiger Beimpfung mit fördernden Keimen (die ungehemmt wuchsen), negativ ausfielen. Man könnte annehmen, daß der bei dem Vorgang der Entfärbung des Methylenblaus verfügbar werdende Sauerstoff mit bestimmten Atomgruppen der Bakterienzelle in Verbindung tritt, die mit den Wachstumsvorgängen nicht in direktem Zusammenhange ständen. Diese Auffassung könnte in Einklang gebracht werden mit der angeführten Ansicht Heffters, der die Beteiligung der Sulfhydrylgruppen bei der Reduktion des Methylenblaus annimmt.

An ein direktes Studium der bei den Oxydationsvorgängen des Influenzabazillus tätigen Faktoren, durch das etwa beim Influenzabazillus, im Gegensatz zu den nicht-hämoglobinophilen Bakterienarten, der Nachweis des Fehlens von gewissen fermentativen Kräften, die durch Hämoglobin ersetzbar wären, als Beweis für die vertretene Auffassung erbracht werden könnte, kann bei dem Stande unserer Kenntnisse über dieses Gebiet noch nicht gedacht werden. Ebensowenig aussichtsreich ist es, auf indirektem Wege durch gasanalytische Bestimmungen des Sauerstoffverbrauchs der Influenzabazillen in Medien mit und ohne Hämoglobin zu einer Bestätigung zu gelangen, daß der Influenzabazillus ohne Hämoglobin nicht imstande ist, den für die Wachstumsvorgänge nötigen Sauerstoffbedarf zu decken, da einerseits, wie gezeigt, der Sauerstoffverbrauch des Influenzabazillus nicht nur vom Hämoglobin abhängig zu sein braucht, und andererseits andere Bakterien, die bei derartigen Versuchen immer zum Vergleich herangezogen werden mußten, nach Warburg ebenfalls einen größeren Sauerstoffverbrauch bei Gegenwart von Blut aufweisen. Es würden also dabei resultierende quantitative Unterschiede im Sauerstoffverbrauch der Influenzabazillen mit und ohne Hämoglobin nicht beweisend sein.

Von Interesse erschien es, ob Körper, die in ihrer katalytischen Funktion der eisenhaltigen Blutfarbstoffkomponente ähneln, den Einfluß des Hämoglobins auf den Influenzabazillus zu ersetzen vermögen. Geprüft wurde die künstliche Peroxydase Wolffs, ein anorganischer Katalysator, der hergestellt wird, indem stark verdünnte Lösungen von Eisensulfat und Ferrozyankalium in bestimmtem Verhältnis gemischt werden. 60 ccm einer wässrigen, 33 mg Ferrozyankalium enthaltenden

Lösung wurden mit 200 ccm einer wässerigen, 35 mg Ferrosulfat enthaltenden Lösung versetzt. Die blaugefärbte, klare, kolloidale Lösung gab, unter anderem bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd, deutliche Benzidinreaktion, die sich aber in ihrem zeitlichen Verlauf deutlich von der durch Hämoglobin erzeugten zu unterscheiden schien. Mit dieser Flüssigkeit in Verdünnungen von 1:10—1:100 000 versetzter 42° warmer Agar zeigte auch in Symbioseversuchen kein Wachstum der Influenzabazillen.

Sollten auch andere Körper von ähnlicher Wirkung nicht die Rolle des Hämoglobins übernehmen können, so könnte man vermuten, daß die Wirkung des Hämoglobins auf den Influenzabazillus eine spezifische ist, ganz entsprechend der Anschauung, die auch die katalytische Funktion des Hämoglobins, als eine spezifische, von derjenigen der „echten Peroxydase“, wohl zu unterscheidende betrachtet.

Es erhebt sich dabei auch die Frage, ob eine Vermehrung des Influenzabazillus im Organismus des Menschen auch ohne Gegenwart von Hämoglobin möglich ist, oder ob stets, beispielsweise in der influenza-bazillenhaltigen Lumbalflüssigkeit, gewisse, wenn auch minimale Spuren von Hämoglobin vorhanden sein müssen. Ist der Influenzabazillus auch im Organismus auf das Hämoglobin angewiesen, so fragt es sich, ob er selbst fähig ist, am Orte seines Eindringens eine hämorrhagische Entzündung, etwa so schwere hämorrhagische Entzündungen der Luftwege, wie sie bei dieser Pandemie beobachtet wurden, zu erzeugen, die ihm die weitere Vermehrung ermöglicht, oder ob etwa ein anderer Erreger ihm, der dann erst an zweiter Stelle stehen würde, den Boden vorbereitet. Tierversuche von Kolle und Delius haben nun schon ergeben, daß der Influenzabazillus bei Einverleibung in die Bauchhöhle von Versuchstieren eine hämorrhagische Entzündung auszulösen vermag, so daß also auch diese Ueberlegungen einen Zweifel an der Rolle des Influenzabazillus als Erreger nicht zu erwecken brauchen, wenn weitere Untersuchungen, deren Vornahme, um über diese äußerst bedeutungsvolle Frage Klarheit zu verschaffen, sehr erwünscht wäre, eine allgemeine Bestätigung der Kolle-Deliusschen Versuche tatsächlich erbringen. Besitzt der Influenzabazillus diese Fähigkeit, mit deren wechselnder Stärke möglicherweise das, was wir Virulenz nennen, eng verknüpft ist, so würde er im Gegenteil in sich die Vorbedingungen erfüllen, die durch das Auslösen ernster lokaler Veränderungen einerseits und das Schaffen optimaler Lebensbedingungen und Vermehrungsmöglichkeiten andererseits die Schwere des Krankheitsbildes erklären könnten. Berücksichtigt man endlich die Labilität seiner Eigenschaften, so würde jener Wechsel der Erscheinungen, die uns Epidemiologie und Symptomatologie der Grippe darbieten, sehr wohl mit dieser in Zusammenhang gebracht werden können. Alles in allem geben uns nicht nur sein Vorkommen bei dieser Pandemie, seine sonstige Verbreitung, seine Lokalisation im erkrankten Gewebe, sondern auch die Eigentümlichkeiten seiner Biologie Veranlassung, die primär-ätiologische Rolle des Pfeifferschen Influenzabazillus bei der Grippe wieder ernstlich in den Kreis unserer Betrachtungen zu ziehen.

**Literatur.**

Batelli u. Stern, Asher-Spiros Ergebnisse. XII. — Bertrand, Ann. Inst. Pasteur. T. 21. — Borchardt, Berlin. klin. Wochenschr. 1894. No. 2. — Buckmaster, Journ. of Physiol. Vol. 37. — Cantani, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 22 u. 32; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. — Capaldi, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 20. — Cathcart u. Hahn, M., Arch. f. Hyg. Bd. 44. — Davis, Journ. of Inf. Dis. Vol. 4. 1907. — v. Fürth u. Czylarz, Hofmeisters Beitr. Bd. 10. — Grassberger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. — Ghon u. Preyss, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. u. 35. — Huber, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 15. 1893. — Hamsik, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 80. — Heffter, Arch. f. exp. Pathol. 1908. Festschr. f. Schmiedeberg. — Kämmerer, Deutsch. Kongr. f. inn. Med. April 1914; München. med. Wochenschr. 1914. No. 21. — Kolle-Delius, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. — Levinthal, l. c. Bd. 86. — Luerssen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. — Madelung, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 71. — Moitessier, Soc. Biol. T. 57. — Nastinkoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896. — Neisser, M., Deutsch. med. Wochenschr. 1903. — Oppenheimer, Die Fermente u. ihre Wirkungen. — Pfeiffer, R., Deutsch. med. Wochenschr. 1892; Zeitschrift f. Hyg. Bd. 13. 1892. — Richter, Wien. klin. Wochenschr. 1894. — Schaer, Zeitschr. f. Biol. Bd. 37. 1899. — Scheller, Kolle-Wassermann. — Schönbein, Zeitschr. f. Biol. Bd. 1—4. — Ungermann, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt 1919. — Voges, Berlin. klin. Wochenschr. 1894. No. 38. — Warburg, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 66. — Willstätter u. Fischer, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 87. — Wolff, Ann. Inst. Pasteur. T. 23 et 24. — Zeynek, v., Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 30 u. 49. — Vgl. auch die Lehr- u. Handbücher von Cohnheim, Hoppe-Seyler, Tigerstedt, und das Biochem. Handlexikon.

*Nachdruck verboten.*

## Parasiten im Pankreas.

### (Ascariden, Cestoden, Echinokokken, Distomen.)

[Aus dem pathologischen Institut der Universität Leipzig (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Marchand).]

Von Privatdozent Dr. med. et phil. Carly Seyfarth, Assistent am Institut.

Ueber Parasiten im menschlichen Pankreas und über dessen Erkrankungen durch solche finden wir in den Handbüchern nur ganz kurze Bemerkungen, ja selbst die Monographien über das Pankreas widmen diesem Abschnitt nur wenige Zeilen. Allerdings sind Parasiten im Pankreas und durch diese verursachte Erkrankungen desselben selten, dennoch aber wohl häufiger, als gemeinhin angenommen wird. Der Fund eines *Ascaris* im Pankreas eines Türken veranlaßte mich zur Sammlung der folgenden, in der Literatur sehr verstreuten und daher wenig bekannten Beobachtungen. Insgesamt konnte ich 31 Fälle von Ascariden, 40 Fälle von Echinokokken und 18 Beobachtungen von Distomen im menschlichen Pankreas, sowie einige Bemerkungen über Cestoden in diesem zusammenstellen.

#### 1. Ascariden.

Bereits Bartholin (1) erwähnt 1644, daß er einen „ziemlich großen Wurm im Pankreas“ gefunden habe. — Die ersten ausführlichen Berichte über Ascariden im Pankreas geben Gmelin und Mauchart (8) 1738 in ihrer Arbeit „*Lumbrici teretes in ductu pancreatico reperti*“. — Lieutaud (13) fand 1767 bei einer an „*febris maligna*“ gestorbenen Frau „*vas secretorium pancreatis lumbrico huc adacto plane obturatum*“. In einem anderen Falle sah er bei einem 42-jähr. Manne im „*ductus pancreaticus vermiculum vivum cum quattuor lapillis nigerrimis*“. — Hayner (9) beobachtete 1818 bei der Sektion eines Irren zahlreiche Ascariden in den Gallenwegen. Ein kleiner *Lumbricus* stak im Ductus Wirsungianus. — Rokitsansky (18), erwähnt, daß sich in der Wiener Sammlung ein Präparat vom 22. Dez. 1830 von einem 9-jähr. Knaben befindet, bei dem zahlreiche Ascariden in den Gallengängen der Leber und 2 neben-

einander liegende im Ductus Wirsungianus stecken. — Auch das pathologische Institut der Universität Kiel besitzt ein Präparat von Spulwurm im Ductus pancreaticus (Heller [10] 1876). — Engel (6) berichtet 1840 über eine Beobachtung, bei welcher mehrere Ascariden den Ductus pancreaticus und seine Aeste ausfüllten. Es waren auch zahlreiche Spulwürmer in den Gallengängen bis weit hinein in der Leber zu finden.

Sick (21) führt 1901 einen Fall an, den sein Vater 1865 bei der Sektion einer 46-jähr. Frau beobachtete: Bei dieser wurden im Duodenum 2 Spulwürmer sichtbar, von denen der eine sich im Ductus choledochus befand und mit seinem Kopfteil bis zum Grunde der Gallenblase gedrungen war, und der andere sich im Ductus Wirsungianus bis zum Ende der Cauda des Pankreas verfolgen ließ. — Nash (16) fand 1883 in Indien bei einem verhungerten Eingeborenen einen 6 Zoll langen *Ascaris lumbricoides* im Pankreasgang. — Truhart (23) traf einmal bei einer Sektion einen *Ascaris lumbricoides* im Pankreasgang an. Zu  $\frac{2}{3}$  seiner Länge war er in diesem verborgen, der Schwanzteil ragte aus der Papilla Vateri frei in das Darmlumen hinein. Truhart erwähnt noch eine Beobachtung von Kirmsse, in der die Leber 7 Würmer enthielt, während sich noch je einer im Ductus choledochus und im Ductus pancreaticus befand. — Davaine (3) bringt 4 diesbezügliche Mitteilungen. Meist enthält der Gang nur 1, in einem Falle sollen 7 Ascariden in dem ampullenartig erweiterten Pankreasgang gehaust haben. — Klebs (11) beschreibt eine Sektion, bei welcher der leicht erweiterte Gang 6 Exemplare, und zwar 3 Männchen und 3 Weibchen, enthielt. Ein Paar nahm den Schwanzteil des Pankreas ein und zeigte mit den Köpfen duodenalwärts. Die anderen 4 hatten das Kopfende gegen die Cauda des Pankreas gewendet. — Railliet und Morot (17) erwähnen noch einen weiteren Fall von Bonet, der ebenfalls einen *Ascaris* im Ductus pancreaticus fand. — Kubo (12) beobachtete 1903 in Japan einen großen, männlichen Spulwurm im Hauptausführungsgang des Pankreas. Dieses war etwas derber als normal, der Ductus war erweitert. — Nakayama (15) berichtet 1908 von dort zwei ganz ähnliche Fälle.

Beide Verff. halten diese Erscheinung für eine bei Lebzeiten geschehene. Alle übrigen Beobachter der aufgezählten Fälle nehmen an, daß die Ascariden erst post mortem in den Pankreasgang gelangt seien. Sie vermögen nicht zu glauben, daß ein *Ascaris* in der Bauchspeicheldrüse leben könne. Sie hätten auch keine entzündlichen Erscheinungen an dieser bemerkt. Meines Erachtens kommt eine postmortale Einwanderung nur gelegentlich in Betracht. Zumeist werden die Parasiten zu Lebzeiten in die Drüse gewandert sein. Genau wie in den Gallengängen können Ascariden, besonders kleinere, auch ohne irgendwelche nennenswerten Erscheinungen im Ductus Wirsungianus parasitieren, worauf ich später noch zu sprechen komme.

Eine bei Lebzeiten stattgefundene Einwanderung ist sicher anzunehmen in den Fällen, in denen sich die Folgen einer plötzlichen oder allmählichen Sekretstauung durch Verschuß des Pankreasganges durch den Wurm bemerkbar machen, oder in denen sich zugleich mit dem Parasiten eine Infektion im Pankreas durch von jenem eingeschleppte, eitererregende Darmbakterien findet. Pankreatitis, eitrige Abszesse, Hämorrhagien und Zystenbildungen, vor allem Fettgewebnekrosen durch die Sekretstauung können in ungünstigen Fällen die Folgen der zweifellos zu Lebzeiten erfolgten Einwanderung von Spulwürmern in das Pankreas sein. So waren Ascariden in den folgenden Beobachtungen die Ursache tödlicher Pankreaserkrankungen:

#### Fall Brera (2).

Bei der Sektion einer Frau fand man den Ductus pancreaticus durch einen großen *Ascaris* verlegt. Die Frau hatte während des Lebens deutlich die Erscheinungen einer Pankreaserkrankung, einer Verhärtung desselben, dargeboten.

#### Fall Vinay (26).

Pat. mit schwerem Ikterus und Gallenwegssymptomen. Bei der Sektion wurden zahlreiche Ascariden in der Leber gefunden, ebenso war der ganze Ductus pancreaticus von solchen ausgefüllt.

#### Fall Ghedini (7).

Bei der Sektion eines an Meningitis gestorbenen 8 jähr. Knaben fanden sich im Darne zahlreiche Spulwürmer. Das Pankreas erwies sich als vergrößert und verhärtet

und mit kleinen, zylindrischen Spulwürmern durchsetzt. Besonders im Pankreaskopfe und in den Ausführungsgängen waren sie zahlreich zu finden, so daß die stark erweiterten Gänge dadurch verstopft wurden. Die Pankreaszellen waren nicht betroffen. Im ganzen bot das Pankreas das Bild einer schweren Pankreatitis interstitialis dar.

Fall Drasche (4).

23-jähr. Mann. Nach völliger Gesundheit plötzlich Magenschmerzen, Fieber, Abmagerung. 14 Tage lang Schmerzanfälle in der Magengegend, die vorgewölbt und gespannt ist. In der 1. Woche Durchfall und galliges Erbrechen, dann Besserung. In der 7. Woche wieder Erbrechen, Durchfall, äußerste Abmagerung. Tod am 65. Tage der Erkrankung. Bei der Sektion wird eine allgemeine Peritonitis gefunden. Das Pankreas ist groß, fest, gelblichrot. Mehrere bohnen große, zum Teil miteinander in Verbindung stehende Abszesse durchsetzen es. Einige sind in den Magen, in das Duodenum und in die Bauchhöhle durchgebrochen. In einem Abszeß mitten im Pankreas in der Nähe der thrombosierten Milzvene findet sich ein Spulwurm.

Pankreasabszesse waren auch im Fall Shea (20) die Folge der Ascarideneinwanderung.

29-jähr. Frau. Seit 15 Monaten Schmerzen in der Lebergegend. Seit 14 Tagen Ikterus und Erbrechen. Nach anscheinender Besserung plötzlich Bewußtlosigkeit. Tod 48 Stunden danach. Bei der Sektion wird das Pankreas vergrößert und hart gefunden. In ihm befindet sich ein Abszeß, der Eiter enthält. Ein 17 cm langer *Ascaris* lag im Ductus pancreaticus fest eingekleilt, ihn verstopfend. Ein Teil des Wurmes ragte frei in das Duodenum.

Eine plötzliche Einklemmung und deren Folgen schildert Durante (5). Hier gab die Sekretstauung zu wiederholten Blutungen im Pankreas, zu entzündlicher Wucherung und zu „Zysten“-Bildung des peripankreatischen Bindegewebes Anlaß.

Ein Mädchen kam mit heftigen Schmerzen und einem Tumor im r. Hypochondrium ins Spital. Bei der Laparotomie fand man an Stelle des Pankreas eine Zyste, die entleert wurde. Tod 2 Tage danach. Bei der Sektion war im Ductus Wirsungianus ein *Ascaris lumbricoides* eingeklemmt. Durch diesen war das Lumen des Ganges vollkommen aufgehoben, und die oberhalb gelegenen Teile des Ganges erschienen stark erweitert. In weiterer Folge war es zur Erweichung der Drüse gekommen, deren Rest sich im Innern einer abgekapselten, fibrösen Zyste als weicher Körper fand. Glykosurie bestand nicht. Der Verschuß des Ductus hatte eine Stauung des Pankreassekrets und dessen Ansammlung zwischen dem eigentlichen Pankreas und einer dieses umgebenden, neugebildeten, fibrösen Kapsel bedingt.

In der folgenden Beobachtung von Simmonds (22) ist eine Fettgewebsnekrose des Pankreas die Folge der Parasiteneinwanderung.

Bei einem Fall von Fettgewebsnekrose des Pankreas wurde ein Verschuß des Ductus pancreaticus durch einen Spulwurm gefunden. S. glaubt, dies Ereignis für die Fettgewebsnekrose verantwortlich machen zu müssen.

Vierordt (24) stellte zum ersten Male die Diagnose Ascaridenabszesse der Leber und des Pankreas schon zu Lebzeiten:

2-jähr. Knabe, der seit mehreren Monaten nicht wohl war, erkrankte mit Fieber und Erbrechen von 3 jugendlichen Exemplaren von *Ascaris lumbricoides*. Seitdem wochenlang auf Santonin täglich Abgang von 16–30 jugendlichen Ascariden. Im schmerzenden l. Hypochondrium war zeitweise ein walnußgroßer Tumor fühlbar. Im Blut 5 $\frac{1}{2}$  Mill. E., 15000 L., keine Eosinophilie. Bei der Laparotomie wird eine große, feste Leber mit vereinzelten Höckern gefunden. Unter fortgesetzter Wurmentleerung (etwa 500 Stück), zuweilen durch Erbrechen, verfiel das Kind. Nie Ikterus. Temperatur schwankend. Der kleine Tumor links wird schließlich als ein Abszeß des Pankreas-schwanzes diagnostiziert. Nie Krämpfe, Koma, wohl aber ein paar Schübe von Urticaria.

Sektion: Leber groß, Gallengänge erweitert, in allen Massen von kleinen, weißen Ascariden, auch der Ductus choledochus und der D. hepaticus waren mit solchen vollgepfropft. Der Ductus pancreaticus enthielt ebenfalls einen Wurm. Der Pankreas-schwanz war nekrotisch und von Eiter umgeben. Im Darm, im Magen, im Oesophagus, im Larynx etwa 200 Würmer. Alle bei der Sektion angetroffenen Würmer waren die gleichen wie die zu Lebzeiten entleerten: 5–15 cm lang, dünn, vollkommen weiß. Es waren junge Ascariden, aber kein einziges geschlechtsreifes Weibchen darunter.

Ist ein *Ascaris* in den Ductus pancreaticus gelangt, so wird er in den meisten Fällen jedoch nicht so schwere Krankheitsbilder verursachen. Er wird nur den Abfluß des Pankreassaftes mehr oder weniger behindern, was die Erweiterung und Hypertrophie aller Ausführungs-



gänge der Drüse bis zu den feinsten Zweigen zur Folge haben kann. Ein im Pankreasgang befindlicher weiblicher *Ascaris* kann ferner daselbst Tausende von Eiern erzeugen, die durch den Saftstrom auch in retrograder Weise in kleinere Ausführungsgänge des Pankreas befördert werden und dort die Veranlassung zur Ausbildung von Fremdkörpertuberkeln geben können. Muroya (14) teilt 1912 einen solchen Fall mit:

29-jähr. Japanerin, die seit langem an Ascariden leidet. Vor etwa 2 Jahren fühlte sie eines Tages plötzlich heftiges Unwohlsein. Am nächsten Morgen Frösteln und Kopfschmerzen, am Abend heftige Leibscherzen in der Gegend über dem Nabel. 2 Tage später ein gleicher Schmerzanfall mit nachfolgendem Erbrechen von Spulwürmern. Dies verschwand nach 10 Tagen spurlos. Ein Jahr danach wird sie von einem gleichen Schmerzanfall geplagt. Von da an quälen solche die Pat. von Zeit zu Zeit und werden immer häufiger. Fast jedesmal sind sie von Erbrechen von Spulwürmern begleitet. Bei der Aufnahme im Spital fühlt man in der Epigastrialgegend einen querverlaufenden, etwa daumendicken, druckempfindlichen, derben Strang. Dessen Oberfläche wird von zahlreichen weißen, miliar bis zeigefingerkuppengroßen, derben, teils etwas erhabenen Knötchen durchsetzt, so daß man das Bild wohl mit Tuberkeln vergleichen kann. Ein kleines Stück wird zur histologischen Untersuchung entnommen. Nach der Operation geht es der Frau besser. Sie wird gebessert entlassen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung sind die Drüsenzini durch ziemlich stark gewuchertes Bindegewebe in Gruppen zerteilt, die Anordnung der Azini ist aber regelmäßig. Neugebildete Blutgefäße sind nirgends anzutreffen, dagegen findet man viele dickwandige und erweiterte Ausführungsgänge, deren Zylinderepithel regelmäßig, einschichtig angeordnet ist. Die L. Inseln sind etwas vermindert. Einige schwer färbbare Stellen bestehen aus einem nekrotischen Gewebe, welches sich innerhalb des Parenchyms, und zwar um hier und da zahlreiche vorhandene Herde herum findet. Diese sind unregelmäßig rundlich oder oval gestaltet und an allen Seiten von mächtig entwickeltem Bindegewebe umgeben. Die unmittelbar an sie anschließende Drüsensubstanz ist etwas atrophisch. Die Herde finden sich zerstreut im ganzen Pankreas, oft dicht nebeneinander liegend. In ihnen finden sich zahlreiche große, vielkernige Riesenzellen und viele punktförmige, lichtbrechende Gebilde, die sich als Ascarideneier erweisen. Mitunter liegen diese innerhalb der Riesenzellen.

In den meisten der aufgezählten Beobachtungen handelte es sich um den Befund oft sehr zahlreicher Spulwürmer in Darm, Gallengängen und daneben im Pankreas. Ich seziierte 1916 in Gümurdshina einen türkischen Soldaten, in dessen Pankreas sich ein einzelner *Ascaris* befand, während im Darm und den übrigen Organen keine Spulwürmer beobachtet wurden.

35-jähr. Türke. Bei der Sektion fand sich ein kleines, etwa kirschkerngroßes Karzinom an der Pap. Vateri, die dadurch zerstört und in ein Geschwür umgewandelt war. Die Mündung des Duct. choledochus war vollständig verlegt, der Gang oberhalb stark erweitert und ebenso wie die erweiterte Gallenblase reichlich mit Galle gefüllt. In der stark ikterischen Leber waren einige kleine, feste, metastatische Knoten. Das Pankreas war ziemlich umfangreich, 15 cm lang, 4 cm breit und 3 cm dick. Das ganze Präparat wurde unaufgeschnitten zugleich mit anderem Sektionsmaterial Herrn Geh. Rat Marchand nach Leipzig gesandt. Dieser fand auf einem Längsschnitt durch das Pankreas dieses nicht karzinomatös infiltriert. Der Ductus pancreaticus war stark erweitert, mit eingedickten Inhaltmassen (zahlreichen kleinen, zelligen Elementen) gefüllt. Im Endstück des Ganges steckte, mit dem Kopfteil lienalwärts, ein junges, männliches Exemplar von *Ascaris imbricoides*, den Gang völlig ausfüllend, von 37 mm Länge und 2 mm Dicke.

In 7 der oben erwähnten Fälle wird über gleichzeitige Befunde von Ascariden in den Gallenwegen und in den Ausführungsgängen des Pankreas berichtet. In den Gallengängen und in der Leber sind Spulwürmer viel häufiger getroffen worden als im Pankreas. Mehr als 200 derartige Beobachtungen finden sich in der Literatur. Viele Monate lang können sie in Gallenwegen und Leberabszessen parasitieren. Das beweisen Beobachtungen, wo man nach mehrwöchigem Ikterus bei Laparotomie Ascariden in den Gallengängen festsitzend antraf, oder wo ein lebender *Ascaris* in einem 4—5 Monate alten Leberabszeß gefunden wurde, zumal daneben noch gefurchte Ascarideneier in diesem nachzu-

weisen waren (Vierordt, 25). Wie dort können sich die Spulwürmer natürlich auch im Pankreas und in dessen Gängen monatelang lebend erhalten. Wahrscheinlich schlüpfen sie schon als junge Formen durch Eigenbewegung in die engen Gänge.

Diese sonderbare Vorliebe der Spulwürmer, in Gallen-, Leber- und Pankreasgänge zu wandern, erklärt sich aus ihrer Eigenschaft, sich durch enge Oeffnungen zu zwängen (Leuckart). So fand man zufällig abgegangene Spulwürmer mit verschluckten Drahtösen oder durchbohrten Glasperlen gürtelartig um ihren Körper. Nach Rosenthal (19) läßt diese Eigenschaft auch verstehen, daß sich die Ascariden, wenn sie durch gewisse Genuß-, Nahrungs- oder Arzneimittel gereizt werden, durch aktive Bewegung einen Schlupfwinkel suchen, um diesen möglichst zu entweichen. Die Wege, die dabei in Betracht kommen, sind neben Magen und Oesophagus die Pankreas- und die Gallengänge.

Beiläufig sei erwähnt, daß bei Tieren (Schweinen, Rindern, Pferden) Ascariden im Pankreas viel häufiger zur Beobachtung kommen als beim Menschen (Railliet, 17).

## 2. Cestoden.

In einigen Werken wird beiläufig erwähnt, daß *Taenia saginata* und *Taenia solium* (Herxheimer, 28) in seltenen Fällen im Ductus pancreaticus vorkommen bzw. dort mit dem Kopf festsitzen. Genaue Mitteilungen solcher Beobachtungen habe ich jedoch nicht gefunden. Langerhans (29) fand in entsprechender Weise bei einer Sektion eine lebende *Taenia saginata*, die durch die Papille des Duodenums und den Ductus choledochus hindurch weit in den einen Leberlappen hineinragte und sich dort wahrscheinlich festgesaugt hatte.

Eine bisher einzig dastehende Beobachtung machten 1900 Stieda und Nauwerck (31). Die klinischen Erscheinungen sprachen dafür, daß eine Tänie zu Lebzeiten, kurz vor dem Tode des Pat. die Wand des Duodenums und die Substanz des Pankreas durchbohrte und so durch die Darmwand hindurch in die Bauchspeicheldrüse eingedrungen war.

Bei der Sektion einer an Pyloruskarzinom gestorbenen Frau fand Stieda im Duodenum eine Tänie, welche die Wand des Duodenums durchbohrt hatte und sich bis in das Pankreas hinein verfolgen ließ. Im Pankreas zog sie zuerst ziemlich oberflächlich, dann nach der Rückseite hin, wo sie ein regelmäßiges Konvolut bildete; der Kopf fand sich im Pankreasgewebe dicht an der hinteren Fläche. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Tänie bei ihrer Wanderung durchs Pankreasgewebe verschiedene Wege benutzte, zum Teil die vorgebildeten Hohlräume, teilweise drang sie auch mitten durch das Parenchym der Drüsenläppchen. Der Weg kennzeichnete sich durch Blutungen und Nekrosen der unmittelbaren Nachbarschaft. Nauwerck (30) wendet sich 1913 gegen Marchand, der diesen ganzen Vorgang als zufälliges Ereignis, als Kunsterzeugnis, erklären möchte. Nauwerck betont dagegen an der Hand der mikroskopischen Präparate, daß diese Durchbohrungen sicher nicht künstlich, sondern tatsächlich zu Lebzeiten der betreffenden Frau entstanden seien.

Ein *Cysticercus cellulosae* ist ebenfalls im menschlichen Pankreas gefunden worden (Railliet u. Morot, 17). Ungleich häufiger werden Cysticerken im Hundepankreas beobachtet.

## 3. Echinokokken.

Echinokokken kommen in Gegenden, wo sie häufig beim Menschen gefunden werden, gelegentlich auch im Pankreas zur Beobachtung.

Die älteste Beschreibung von Echinokokken im Pankreas rührt von [Fall 1.] Chambon de Montaux (33) her, der 1789 bei der Sektion einer Frau eine „Hydatide“ in dem sonst gesunden Pankreas antraf. — Eine ähnliche Geschwulst hat [Fall 2.] Portal (45) 1803 in der Cauda pancreatis gefunden. — [Fall 3 u. 4.] Engel (6) hat bei seinen Sektionen einmal den Befund einer multiplen Erkrankung feststellen können: Neben Gehirn, Nieren und anderen Organen saßen „in der Mitte des vorderen Randes

des Pankreas 6—8 rundliche Blasen, deren Wandungen untereinander in engster Beziehung standen“. In einem anderen Falle zeigten sich im bindenden Zellgewebe des Pankreas 6—8 hanfkorn- bis erbsengroße Wasserblasen (Hydatiden). Gleich hier sei bemerkt, daß diese ältesten 4 Beobachtungen zweifelhaft sind, da ja früher nicht nur Echinokokken, sondern auch einfache Zysten als „Hydatiden“ bezeichnet wurden. — [Fall 5.] Seidel (48) berichtet über den Durchbruch eines Leberechinokokkus in die Lunge. Es fand sich ferner eine mehrere Zoll lange, nierenförmige Echinokokkuszyste am Schwanz des Pankreas. — [Fall 6, 7.] Thomas (49) erwähnt zwei Fälle, in denen das Pankreas der alleinige Sitz einer Echinokokkuszyste war. — [Fall 8.] Bei Nadeschdin (37) ist ebenfalls ein Pankreasfall von Echinokokkenkrankung aufgezeichnet. — [Fall 9.] Pericic und v. Lalic (37) erwähnen einen Fall:

18-jähr. Mädchen. Stauungsikterus. Ascites. Milzschwellung. Oedeme der Beine. Diagnose: E. der Leberpfortengegend. Die Operation hatte keinen Erfolg. Sektion: E. des Pankreaskopfes.

Nach [Fall 10 u. 11.] Colombani (35) war unter 147 eigenen Fällen von E.-Erkrankung das Pankreas 2mal der Sitz einer E.-Zyste.

[Fall 12.] Péan (47).

27-jähr. Mann mit zystischem Bauchtumor. Nach Punktion von 2 l klarer Flüssigkeit, die E-Teile enthielt, wird die E.-Zyste, welche dem Pankreas angehörte, entfernt. Heilung.

[Fall 13.] Bobrow (37):

27-jähr. Mann. Aufstoßen, Druck in der Magenrube, Dyspepsie, Gelbsucht. Durch Laparotomie wird eine kugelige, fluktuierende E.-Zyste, die sich im Pankreaskopfe befindet, mit ihrer Chitinhülle in toto entfernt. Heilung.

[Fall 14.] Vegas y Cranwell (52):

14-jähr. Knabe. Seit 5 Mon. Ikterus, Schmerzen, Tumor. Diagnose: Cholelithiasis. Laparotomie: In der Gallenblase Gieß und kleine Steine. Gallenwege durchgängig. Ferner wird eine in den tieferen Teilen des Pankreaskopfes liegende E.-Zyste mit ihrer Chitinmembran entfernt. Heilung.

[Fall 15.] Martin (37):

21-jähr. Mädchen. Seit 7 Mon. Rückenschmerzen, Magenbeschwerden, Erbrechen. Unter dem Magen eine harte Geschwulst und Druckempfindlichkeit. Laparotomie. Es findet sich eine reichlich 2-faustgroße Zyste des Pankreas, aus der sich E.-Blasen entleeren. Heilung.

[Fall 16.] Villar (54, 55, 56):

V. exstirpierte bei einem Pat., den er im Mai 1900 wegen Leberechinokokkus operiert hatte, im Juli 1902 zunächst 12 Zysten, die im Netz und Mesenterium saßen, 2 weitere fanden sich in der Milz. Schließlich wurde noch eine kleine, mandarinengroße E.-Zyste im Pankreas entfernt. Heilung.

[Fall 17.] Jonnescu (38):

44-jähr. Mann mit Bauchtumor, der in transversaler Richtung ziemlich beweglich war. Vertikal war er inspiratorisch mit der Leber verschieblich. Vorher hatte Ikterus bestanden. Fette gingen unverdaut mit dem Kot ab. Es wurde eine E.-Zyste des Pankreaskopfes entfernt. Heilung.

[Fall 18.] Mokrowsky (40):

25-jähr. Mann litt seit 2 Jahren an einer Geschwulst in der Magengegend, die heftige Schmerzanfälle verursachte. Bei der Operation wurde ein kindskopfgroßer, fluktuierender Tumor des Pankreaskopfes von derber Beschaffenheit gefunden. In der Tumorröhle fanden sich Eiter und E.-Blasen

[Fall 19.] Ribera y Sans (37):

21-jähr. Frau hatte einen seit 2 Jahren bestehenden, schmerzhaften Tumor in der Regio epigastrica. Durch Laparotomie wurde eine E.-Zyste des Pankreas entfernt. Heilung.

[Fall 20.] Lejars (47):

55-jähr. Frau hatte seit 12 Jahren einen Tumor in der l. oberen Bauchgegend bemerkt. Seit einigen Tagen Schmerzen und Fieber. Durch Laparotomie wurde eine sehr große Echinokokkuszyste mit vielen Tochterblasen entfernt. Man sah die Zyste deutlich aus dem Körper des Pankreas heraustreten. Tod kurz danach.

[Fall 21.] Briggs (32).

45-jähr. Frau. Seit 1 Jahre Magenbeschwerden, Erbrechen, Abmagerung. Bei der Operation wurde ein zystischer Tumor im Pankreasschwanz entfernt. Heilung. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß es sich um eine E.-Zyste des Pankreas mit sarkomatös degenerierter Wandung handelte.

[Fall 22.] Müller und Hanser (37, 41):

61-jähr. Mann, der an Urosepsis gestorben war, hatte zu Lebzeiten unbestimmte Magenbeschwerden gehabt. Bei der Sektion wurde ein etwa apfelsinengroßer E. des Schwanzteiles des Pankreas gefunden. Die geöffnete Mutterblase läßt noch deutlich

die Tochterblasen erkennen. Die Entwicklung ist nach dem anatomischen Befund zweifellos im Pankreas selbst erfolgt. In anderen Organen wurden E. nicht gefunden.

Die aufgezählten Beobachtungen werden von Tricomi (51), Villar (54, 55, 56), Roton (47) und vollzählig von Hanser (37) in ihren Zusammenstellungen angeführt. Ferner erwähnt Hanser 6 Fälle [Fall 23—28.] von Hunter, Turner, Subbotic, Hildebrand, Ricard und v. Melunikow-Raswedenkow, in denen E.-Zysten unmittelbar auf oder am, aber nicht im Pankreas gefunden wurden. Von 3 E.-Zysten im Pankreas [Fall 29—31.], die von Shiwopirzeff, von A. A. Bobroff und von Plates beschrieben wurden, konnte Hanser die Literatur nicht beschaffen.

In obigen Zusammenstellungen, auch bei Hanser, werden nicht erwähnt die Beobachtungen [Fall 32—34.] von E. im Pankreas, die Chutro-Argentinien (34) und Verdelet-Südfrankreich (53) mitteilen, und von Peters (43), der in Kanada eine E.-Zyste in der Mitte des Pankreaskörpers fand.

Aus neuester Zeit sind mir die folgenden Beobachtungen bekannt geworden: [Fall 35.] Craglietto (36) beschrieb 1913 eine solitäre E.-Zyste im Pankreaskopfe. [Fall 36.] Parlavecchio (42) exstirpierte 1913 mit gutem Erfolg eine E.-Zyste des Pankreas. Eine solche fand ferner [Fall 37.] 1914 Righetti (46). Leider war mir die betreffende Literatur nicht zugänglich. — [Fall 38.] Phillips (44) teilt 1913 eine gleiche Beobachtung mit:

35-jähr. Russe. Seit 7 Jahren Beschwerden, die auf ein Duodenalgeschwür hindeuten. Ein solches wurde bei der Operation festgestellt. Ferner wurde eine etwa 3 Zoll im Durchmesser haltende E.-Zyste, die ihren Sitz im Pankreaskopfe hatte, entfernt. Heilung.

Phillips (44) erwähnt, daß Graham-Sidney [Fall 39.] eine große Echinokokkuszyste im Pankreaskopfe beobachtete. — [Fall 40.] Treudhardt (50) teilt 1915 folgende Beobachtung mit:

Bei einer Pankreatokystojejunostomie sah er, daß  $\frac{2}{3}$  der Bauchspeicheldrüse bis ganz nahe an den Kopf von einer sehr großen E.-Zyste eingenommen wurde. Drainage der Tochterblasen. Danach Salvarsanbehandlung.

Unter diesen 40 Fällen sind, wie wir sahen, einige, bei denen nicht sicher ist, ob es sich wirklich um E. des Pankreas gehandelt hat. In Fall 23—28 wird der Sitz auf oder am Pankreas angegeben. Vielleicht muß auch noch die eine oder andere der ältesten Beobachtungen abgerechnet werden. Immerhin ist es sicher, daß eine ganze Reihe von Mitteilungen vorliegen, in denen die E. ihren Sitz allein im Pankreas hatten. Nur 4mal wird das multiple Vorkommen von E. im Pankreas und zugleich auch in anderen Organen angegeben.

In der überwiegenden Mehrzahl der genau beschriebenen Fälle war der **Kopfteil** des Pankreas als Sitz des solitären Pankreasechinokokkus angegeben. Nur in einer sicheren Beobachtung (Fall 22) wurde der E. im Pankreasschwanz gefunden. Bei der Häufigkeit des Sitzes im Kopfe möchte ich annehmen, daß Echinokokkuseier nicht nur auf Blut- und Lymphwegen wie in alle übrigen Organe auch ins Pankreas gelangen können, sondern daß Echinokokkusembryonen wahrscheinlich auch auf direktem Wege durch den Ductus Wirsungianus in das Pankreas wandern. Wir sehen ja, daß Ascariden und Distomen, zumeist im Jugendstadium, durch den Ductus Wirsungianus in die Bauchspeicheldrüse gelangen. Warum sollte nicht auch ein Echinokokkenembryo in seltenen Fällen diesen Weg einschlagen?

Symptome und Diagnose eines E. des Pankreas sind denen einer gewöhnlichen Pankreaszyste gleich. Vielleicht können Urticaria, Eosinophilie, Hydatidenschwirren, sowie serodiagnostische Verfahren in manchen Fällen differentialdiagnostisch verwendet werden. Die verschiedenen Operationsverfahren des Pankreasechinokokkus werden von Villar (54, 55, 56), Roton (47) und von Hanser (37) besprochen. In den meisten Fällen scheint die völlige Heilung gelungen zu sein.

#### 4. Distomen.

Distomen werden, oft in ungeheurer Zahl, besonders in subtropischen und tropischen Gegenden, aber auch in Europa im menschlichen Pan-

kreas beobachtet. Es kommen Leberdistomen und zwar a) *Distomum felineum* (*Opisthorchis felineus*) und b) *Distomum spathulatum* (*Clonorchis sinensis*) in den Pankreasgängen vor. Auch Lungendistomen, c) *Distomum pulmonale* (*Paragonimus Westermani*) können ihren Sitz im menschlichen Pankreas haben.

a) *Distomum felineum* (*Opisthorchis felineus*).

In Königsberg beobachteten Rindfleisch (66) und Askanazy (57) zweimal Distomen im Pankreas:

43-jähr. Mann. Seit 4 Monaten Schmerzen in der Nabelgegend. Seit 6 Wochen zunehmender Ikterus. Im Stuhl reichlich Distomeneier. Bei der Sektion fand A. ein primäres Karzinom der großen Gallengänge und des Pankreaskopfes. In den ungeheuer erweiterten Gallengängen und in allen ebenfalls stark erweiterten Verzweigungen des Ductus pancreaticus befanden sich einige 1000 Exemplare von *Distomum felineum*, einzelne auch im Duodenum. Die Pankreasgänge sind noch am Schwanz 2–3 mm breit. Mikroskopisch enthielten sie Eier, Leukozyten, Epithelien, Blut und schwarzes Pigment. In der Wand der Gallengänge der ganzen Leber ließ sich eine starke drüsige Sprossenbildung nachweisen. Auch die Verzweigungen des Ductus Wirsungianus zeigten eine durch Bindegewebsentwicklung und geringe epitheliale Wucherung bedingte Wandverdickung.

Noch einen 2. Fall beobachteten beide, wo sich abermals ein Karzinom der Gallenwege mit einer Distomeninfektion der Leber und des Pankreas vergesellschaftete:

44-jähr. Mann. Seit 2 Jahren Schmerzanfälle in der Magengegend. Starke Abmagerung. Im Stuhl Distomeneier. In den letzten Wochen Zeichen eines Leberkrebses. Bei der Sektion der sehr ikterischen Leiche fand sich eine hochgradige Stenose der großen Gallengänge durch krebsige Infiltration in ihrer nächsten Umgebung, während die Schleimhaut nicht geschwulstig entartet war. Die zahlreichen Leberknoten waren Metastasen eines kleinen Pyloruskarzinoms. Etwa 1000 *Distoma felineum* wurden aus den mäßig erweiterten und verdickten Gallengängen, sowie aus den Verzweigungen des stark erweiterten Ductus Wirsungianus herausbefördert. Die histologische Untersuchung des Pankreas ergab eine starke drüsige Wucherung der Pankreasgänge und intra- und interazinöse Zirrhose (*Pancreatitis interstitialis*), im Pankreas weiterhin Blutungen, Nekrosen des Drüsengewebes und des Fettgewebes in der Umgebung. Alle Ausführungsgänge der Bauchspeicheldrüse, deren Verzweigungen, Schaltstücke und Drüsenkanälchen waren bis in die Drüsenbläschen hinein erweitert und mit Parasiten, Eiern und Schleim gefüllt. Auch im Stroma fanden sich Parasiteneier.

Aus Italien gibt Nencioni (64) 1906 einen weiteren Sektionsbericht eines Menschen, bei dem *Distoma felineum* in den Pankreasausführungsgängen gefunden wurden. Sie waren die Ursache einer ausgesprochenen Cirrhosis pancreatis geworden.

b) *Distomum spathulatum* (*Clonorchis sinensis*).

Aus Japan und Indochina, wo die Distomiasis des Menschen nach den vorliegenden Mitteilungen in manchen Gegenden weit verbreitet ist, werden zahlreiche Beobachtungen von Distomen im Pankreas berichtet. So erwähnt Katsurada (59, 60) 9 Sektionsbefunde von Distomiasis beim Menschen, bei denen *Dist. spathulata* nicht nur in den Gallenwegen, sondern auch in den Pankreasausführungsgängen gefunden wurden. Er sah die Parasiten in 11,8 Proz. seiner gesamten Distomiasisfälle auch im Pankreas. — Inouye (58) beobachtete in 3 Fällen Distomen in den Pankreasgängen des Menschen.

Aus Indochina beschreiben 1913 Sambuc und Baujean (68) einen Fall von Distomiasis, der durch die große Zahl der vorgefundenen Trematoden bemerkenswert war: Bei dem völlig kachektischen Kranken, der unter Beri-Beri-ähnlichen Erscheinungen mit Ascites gestorben war, fanden sich bei der Sektion in den Gallen- und Pankreasgängen weit über 21000 Würmer. 70 davon gingen auf ein Gramm.

Low (63) teilt 1909 den Krankenbericht und Sektionsbefund eines Patienten mit Leberdistomen mit:

Bei dem abgezehrten Pat. waren die Parasiten zu Hunderten in den Gallengängen der Leber. Das Pankreas war stark vergrößert und verhärtet und enthielt im Hauptgang und in kleineren, erweiterten Gängen zahlreiche Parasiten. Auch im Magen und im Dünndarm fanden sich diese. Es handelte sich nach L. wahrscheinlich um *Dist. spathulatum*.

c) *Distomum pulmonale* (*Paragonimus Westermani*).

Lungendistomen können nach Looss (62) in sehr seltenen Fällen ihren Sitz im menschlichen Pankreas haben. Abszesse mit Wurmeiern oder auch mit erwachsenen Würmern wurden sowohl oberflächlich wie tiefer im Pankreasparenchym gefunden.

Aus Japan wurden noch mehrere andere hier nicht aufgeführte Beobachtungen von Leberdistomen im menschlichen Pankreas berichtet.

Sie scheinen also bei stärkeren Infektionen mit diesen Würmern im Pankreas nicht selten zu sein. Katsurada (60) weist jedoch darauf hin, daß er sie bei genauer Nachforschung in den Pankreasgängen auch in Fällen fand, in denen nur vereinzelte Tiere in den Gallengängen waren, also nicht ausschließlich bei den stärksten Infektionen. — Ueber die Pankreasveränderungen durch diesen Parasiten schreibt er S. 500: „Vielfach erzeugt er eine Erweiterung der großen und kleinen Pankreasgänge und gleichzeitig gewöhnlich eine Verdickung der Wände, außerdem wohl auch in der Umgebung der Pankreasgänge, zwischen den Drüsenläppchen und sogar innerhalb derselben eine entzündliche Infiltration und Bindegewebswucherung. Wie mir scheint, kompliziert sich nicht selten der Zustand gleichzeitig mit Atrophie und Degeneration des eigentlichen Drüsenparenchyms.“

In einem Falle hatte Katsurada bei von Dist. spat. sehr zahlreich bevölkerten Gallenwegen in der Leiche Induration und Zystenbildung des Pankreas gesehen. Der Betreffende hatte zu Lebzeiten an Diabetes mellitus gelitten. Ich meine, daß hier zwischen der Distomiasis und den pathologischen Veränderungen des Pankreas eine innige Beziehung bestand, der Diabetes also letzten Endes auf die Einwanderung der Parasiten zurückzuführen ist. — Auch Inouye (58) beobachtete einen anderen Fall, bei dem sich eine Distomiasis mit Diabetes mellitus komplizierte. — Ferner fand Yamagiva (58) bei der Sektion eines Distomiasiskranken, der zu Lebzeiten die Erscheinungen eines Diabetes mellitus geboten hatte, eine schwere Atrophie des Pankreas.

Askanazy möchte für seine Fälle einen Zusammenhang zwischen Distomen und Karzinom annehmen. Mitunter kann nach ihm die von den Würmern hervorgerufene epitheliale Proliferation der Gallen- und Pankreasgänge der Ausgangspunkt einer bösartigen Neubildung werden. Diese in seltenen Fällen auftretende Karzinombildung ist also höchstwahrscheinlich durch die Würmer veranlaßt oder begünstigt.

Im allgemeinen haben die Distomen im Pankreas eine Erweiterung der Ausführungsgänge zur Folge. Dann kann es in der Bauchspeicheldrüse zu ganz entsprechenden Veränderungen wie in der Leber kommen: Histologisch läßt sich zunächst im Pankreas eine Sialangitis feststellen. Die erweiterten Gänge sind mit wurm- oder eierhaltigem Schleim gefüllt. In der Wand der Ausführungsgänge besteht eine drüsige Proliferation und eine zellige Infiltration mit zum Teil eosinophilen Leukozyten. Blutungen, Fettgewebstekrosen und Abszesse können sich hinzugesellen. Weiterhin entwickeln sich cirrhotische Prozesse, bindegewebige Wucherungen. Eine chronische Pankreatitis ist die häufigste Form der Distomiasis des Pankreas.

In diagnostischer Hinsicht ist wichtig, daß bei gleichzeitigem Vorkommen der Parasiten in den Pankreasgängen die Verdauungsstörungen stärker sind. Die Mitbeteiligung des Pankreas wird ferner zu erkennen sein an heftigen in der Pankreasgegend lokalisierten Schmerzen und vielleicht an dem Vorhandensein von Eiern im Stuhl bei vollständigem Abschluß der Galle vom Darm (Rindfleisch). Inouye gibt an, daß er das Einnisten der Würmer im Pankreas an den besonders heftigen Diarrhöen und an der Lienterie, dem Abgang unverdauter Speisen, erkennt.

Beiläufig sei bemerkt, daß *Distomum hepaticum*, *felineum* und *spatulatum* ungleich häufiger als in der menschlichen Bauchspeicheldrüse in der tierischen, vor allem bei Rindern, beobachtet werden [Nitta (65) und viele andere]. Katsurada und Saito (67) haben

außerdem unter dem Namen *Distomum pancreaticum* eine nur bei Rindern, und hier ausschließlich im Pankreas, nie in der Leber vorkommende Distomenart beschrieben. Sie beobachteten 10 derartige Fälle. Die pathologische Bedeutung des *Distomum pancreaticum* der Rinder faßt K., wie folgt, zusammen: Je größer die Zahl der vorhandenen Distomen im Pankreas ist, desto stärker sind die Veränderungen. Wir konnten Erweiterung, Verdickung und granuliertte Innenfläche des Ausführungsganges beobachten, in 2 Fällen mit 92 bzw. 137 Distomen in diesem auch bandförmige Wucherung, in einem Falle Steinbildung. Außerdem kam Bindegewebswucherung und Schrumpfung der Drüsenzellen vor.

#### Literatur.

##### 1. Ascariden.

- 1) Bartholin, T., *Epistolarum medicinalium* Cent. I. Epistola LXII. 1644. —
- 2) Brera, V. L., *Memorie fisico-med. sopra i princip. vermi del corp. umano*. Crema 1811. — 3) Davaine, C., *Traité des entozoaires et des maladies vermineuses de l'homme et des animaux domestiques*. 2. Aufl. 1877. p. 783–818. — 4) Drasche, Pankreas-Abszeß. (Ber. d. k. k. Krankenanst. Rudolfstift. Wien 1868. S. 301. — 5) Durante, Pankreaszyste durch *Ascaris* bedingt. (Kongr. d. italien. Chirurg. 1893; *Riforma med.* Vol. 4. 1893. p. 359.) — 6) Engel, Krankheiten des Pankreas. (Med. Jahrb. d. österr. Staates. 1840. S. 411 u. 1841. S. 193.) — 7) Ghedini, Wanderung von Spulwürmern aus dem Darne in den Pankreasgang mit nachfolgender Pancreatitis interstitialis. (Gazz. d. osped. 1904. No. 136.) — 8) Gmelin, P. F., sub praes. Mauchart, B. D., *Lumbrici teretes in ductu pancreatico reperti*. [Dissert.] Tübingen 1738. — 9) Hayner, *Nasses Zeitschr. f. psych. Aerzte*. 3. Vierteljahrsh. Leipzig 1818. S. 514–520. — 10) Heller, *Darmschmarotzer* (v. Ziemssen, H., *Handb. d. spez. Path. u. Ther.* Leipzig 1876. Bd. 7. 2. Hälfte. S. 624.) — 11) Klebs, E., *Handb. d. path. Anat.* Bd. 1. Berlin 1876. S. 553. — 12) Kubo, Ein Fall von eingewandertem Spulwurm im Ausführungsgang des Pankreas. (Med. News [japanisch]. Vol. 23. 1903. No. 4.) — 13) Lieutaud, J., *Historia anatomico-medica*. Hrsg. v. J. C. F. Schlegel. Bd. 1. 1796. S. 87 u. S. 312. — 14) Muroya, S., Ueber die Fremdkörpertuberkel des Pankreas, verursacht durch eingewanderte Ascariseier. (Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 119. 1912. S. 21–30.) — 15) Nakayama, *Ascaris lumbricoides* im Eileiter. (Zeitschr. f. Med. zu Fukuoka [japanisch]. Bd. 2. 1908.) — 16) Nash, J. P., *Lumbricus in pancreas*. (Brit. med. Journ. 1883. Vol. 2. p. 770.) — 17) Railliet et Morot, *Ascaride dans le pancréas d'un porc*. (Compt. rend. Soc. de biol. Paris. Sér. IX. T. 5. 1893. p. 407, 408.) — 18) Rokitansky, C., *Lehrbuch der path. Anatomie*. 3. Aufl. Bd. 3. Wien 1861. S. 287. — 19) Rosenthal, R., *Ascaris* der Gallenwege. (Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 121. 1913. S. 544–559.) — 20) Shea, J., Abscess of the pancreas with large lumbricus obstructing the pancreatic duct. (Lancet. 1881. Vol. 2. p. 791.) — 21) Sick, C., Ueber Spulwürmer in den Gallenwegen. [Dissert.] Tübingen 1901. — 22) Simmonds, Fettgewebsnekrose des Pankreas. (Berlin. klin. Wochenschr. 1915. S. 561.) — 23) Truhart, H., Ueber Entozoen im Pankreas. (Petersburg. med. Wochenschr. Bd. 30. 1905. S. 237–241 u. S. 251–255.) — 24) Vierordt, O., Tödliche Ascaridiasis mit Leber- und Pankreasabszessen. (Naturw.-med. Ver. Heidelberg. Sitz. vom 16. 12. 1912; München. med. Wochenschr. 1903. S. 443.) — 25) Ders., Die Ascaridenerkrankung der Leber und der Bauchspeicheldrüse. (Volkmanns Samml. klin. Vortr. 1904; Inn. Med. No. 111. (375.) S. 209–246.) — 26) Vinay, *Ictère généralisé tenant à la présence de lombrics dans les voies biliaires*. (Lyon méd. T. 1. 1869. p. 251.) — 27) Xémard, G., *Migration des ascarides lumbricoides dans la foie et le pancréas*. [Thèse.] Lyon 1908.

##### 2. Cestoden.

- 28) Herxheimer-Schmaus, *Grundriß der path. Anatomie*. 14. Aufl. Wiesbaden 1919. S. 590. — 29) Langerhans, P., Diskussion zu Nauwerck, C., Perforation des Darms und des Pankreas durch eine Tänie. (Verhandl. d. Deutsch. path. Gesellsch. III. Tagung 1901. S. 82.) — 30) Nauwerck, C., Nochmals die „Durchbohrung des Duodenums und des Pankreas durch eine Tänie“. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. S. 434–436.) — 31) Stieda, A., Durchbohrung des Duodenums und des Pankreas durch eine Tänie. (Ebendas. Abt. I. Bd. 28. 1900. S. 430–437.) — Vgl. zu Cestoden auch Alvarez y Aleñar, J., *Una tenia causante de glucosuria* (Rev. balear. de cien. méd. Palma de Mallorca. T. 24. 1903. p. 73–75), eine Abhandlung, die für mich im Original nicht erhältlich war.



## 3. Echinokokken.

32) Briggs, Sarcoma pancreatis. (St. Louis med.-chir. Journ. Vol. 58. 1890. p. 154—155.) — 33) Chambon de Montaux, Hydatiden im Pankreas. (Observat. clin. 1789. Obs. 55. p. 99.) — 34) Chutro, Sobre un caso de quiste hidatico del pancreas. (Rev. de la Soc. méd. Argentina. 1909.) — 35) Colombani, F., Die Echinokokkenkrankheit. (Wien. klin. Wochenschr. 1909. S. 1413—1415.) — 36) Craglietto, V., Echinococco solitario della testa del pancreas. (Clin. chir. Milano. Vol. 21. 1913. p. 725—778.) — 37) Hanser, R., Ueber Echinokokken des Pankreas. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 77. 1912. S. 360—381.) — 38) Jonnescu, T., Kyste hydatique du pancréas; opération; guérison. (Bull. et mém. Soc. de chir. de Bucarest. T. 8. 1905—1906. p. 5.) — 39) Masseron, P., Des kystes hydatiques multiples de la cavité abdominale. [Thèse.] Paris 1882. — 40) Mokrowsky, P. P., Zur Kasuistik des Echinococcus des Pankreas; Echinococcotomia nach A. A. Bobroff. (Russ. med. Rundsch. Berlin 1904. Bd. 2. S. 655—660.) — 41) Müller, W., Pankreasechinococcus. (Verhandl. d. Deutsch. Gesellsch. f. Chir. 41. Kongr. Berlin 10.—13. April 1912. S. 207, 208.) — 42) Parlavecchio, G., Di un caso rarissimo d'idatide del pancreas guarita colla marsupializzazione. (Pensiero med. Milano. T. 3. 1913. p. 385—387.) — 43) Peters, G. A., Hydatid cyst of the tail of the pancreas. (Canad. Pract. et Rev. Toronto. Vol. 26. 1901. p. 75—78; Am. Journ. Surg. and Gynec. St. Louis. Vol. 14. 1900—1901. p. 185.) — 44) Phillips, C. E., Echinococcus cyst of the pancreas, removal and recovery. (Journ. Am. Med. Ass. Vol. 61. 1913. P. II. p. 1981, 1982.) — 45) Portal, Cours d'anatomie médicale. T. 5. p. 352. — 46) Righetti, C., Due casi di echinococco a sede rara (pancreas e mammella). (Atti d. Accad. med.-fis. Firent 1913. [1914.] p. 73—82.) — 47) Roton, J. A., Les kystes hydatiques du pancréas. [Thèse.] Bordeaux 1905. — 48) Seidel, Echinococcus im Pankreas. (Zeitschr. f. Med. 1864. S. 289.) — 49) Thomas, Hydatid disease in Australia. (Lancet. 1879. p. 247.) — 50) Treudhardt, Kyste à echinocoques du pancréas. (Corr.-Bl. f. Schweiz. Aerzte. Bd. 45. 1915. S. 826.) — 51) Tricomi, Le cisti del pancreas. (Gazz. degli osped. 1892. p. 894.) — 52) Vegas y Cranwell, Les kystes hydatiques du pancréas. (Rev. de la Soc. méd. Argentina. 1906.) — 53) Verdelet, L., Un cas de kyste hydatique, pancréatique. (Journ. de méd. de Bordeaux. T. 39. 1909. p. 7.) — 54) Villar, F., Kyste hydatique du pancréas; double kyste hydatique de la rate; kystes hydatiques de l'épiploon et du mésentère. (Mém. et Bull. Soc. de méd. et chir. de Bordeaux. 1902. [1903.] p. 353—358.) — 55) Ders., Traitement des kystes hydatiques du pancréas. (Assoc. franç. de chir. Proc.-verb. Paris 1905. p. 695—698.) — 56) Ders., Kyste hydatique du pancréas. (Journ. de méd. de Bordeaux. 1908.)

## 4. Distomen.

57) Askanazy, M., Die Aetiologie und Pathologie der Katzenegelerkrankung des Menschen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1904. S. 689—691.) — 58) Inouye, Z., Ueber das Distomum spathulatum. (Arch. f. Verdauungs-krankh. Bd. 9. 1903. S. 107 bis 146.) — 59) Katsurada, F., u. Saito, C., Ueber Pankreasdistomen. (Zeitschr. d. Med. Ges. Tokyo. Bd. 12. 1898. S. 1—6.) — 60) Ders., Beitrag zur Kenntnis des Distomum spathulatum. (Zieglers Beitr. z. path. Anat. Bd. 28. 1900. S. 479—505.) — 61) Ders. u. Saito, C., Ueber eine Distomaart im Pankreas der Rinder. (Ebenda. Bd. 39. 1906. S. 501—506.) — 62) Looss, A., Würmer und die von ihnen hervorgerufenen Erkrankungen. (Mense, K., Handb. d. Tropenkrankh. 2. Aufl. Bd. 2. 1914. S. 311 ff.) — 63) Low, R. B., Fasciolidae in pancreas. (Journ. of trop. Med. and Hyg. Vol. 12. 1904. p. 208—209.) — 64) Nencioni, C., Cirrosi pancreatica da Distoma felineum (contributo alla patologia comparata del pancreas). (N. Ercolani. T. 11. 1906. p. 26, 45, 65.) — 65) Nitta, N., Ueber Distoma im Pankreas der Rinder. (Zeitschr. d. Med. Ges. zu Tokyo. Bd. 11. 1897. S. 909—911.) — 66) Rindfleisch, W., Ueber die Infektion des Menschen mit Distomum felineum. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 69. 1909. S. 1—31.) — 67) Saito, C., u. Katsurada, H., Ueber eine Distomaart im Pankreas der Rinder. (Zeitschr. d. Med. Ges. Tokyo. Bd. 11. 1897. S. 529—533.) — 68) Sambuc, E., et Baujean, R., Un cas de cachexie acquise chez l'homme (distomatose hépato-pancréatique, avec syndrome pseudo-béribérique.) (Bull. Soc. méd.-chir. de l'Indo-Chine. T. 4. 1913. p. 331—333 u. 413.)



*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Aetiologie und feinen Struktur des Rhinoskleroms.**

[Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Königl. Universität Palermo (Direktor: Prof. L. Philipson).]

Von Dr. G. Alagna, Doz. für Ohren-, Nasen und Kehlkopfkrankheiten.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Obwohl das Krankheitsbild des Rhinoskleroms auf das Jahr 1870 zurückgeht, wo F. v. Hebra und sein Schüler Kaposi eine genaue Schilderung der klinischen Merkmale gaben, erhielt das ätiologische und pathologisch-anatomische Studium des Leidens eine bedeutende Förderung erst nach der Entdeckung von Frisch (1882). Seitdem erschienen zahlreiche Arbeiten über den wichtigen Gegenstand. Nichtsdestoweniger wurde das Interesse für dieses Kapitel aus der Pathologie in den letzten Jahren noch größer, und es kamen die neuesten Untersuchungsmethoden zu seiner Erforschung in Anwendung.

Ich möchte hier einen mir in der Privatpraxis vorgekommenen Fall mitteilen, den ich dann in der Dermatologischen Klinik von Prof. L. Philippon verfolgen konnte. Daran anschließend sollen einige Betrachtungen über die Aetiologie und die feine Struktur der Affektion folgen.

C. L., 39-jähr. Metzger aus Cattolica Eraclea (Prov. Girgenti). Sein Vater ist im Alter von 45 Jahren an Pneumonie gestorben, auch ein Bruder starb an derselben Krankheit in jungem Alter (26 Jahre). Die alte Mutter, 4 Brüder und 2 Schwestern sind am Leben und erfreuen sich vorzüglicher Gesundheit. Als Kind hat Pat. nie bemerkenswerte Krankheiten durchgemacht. Eine venerische Erkrankung wird in Abrede gestellt. Im Alter von ungefähr 24 Jahren litt er an heftigen Schmerzen am rechten Ohr, die 8 Tage dauerten.

Im Alter von 29 Jahren gewahrte er fast vollständige Taubheit auf demselben Ohr. 4 Monate nach dem Auftreten der genannten Taubheit bemerkte Pat. das Wiederauftreten eines heftiger Ohrenscherzes, der auch diesmal die Dauer von ca. 8 Tagen hatte. Nach dieser Zeit machte sich, ohne daß Pat. irgendeine Ohreiterung hätte wahrnehmen können, eine bedeutende Besserung des Gehörs bemerkbar.

Die ersten Zeichen der gegenwärtigen Krankheit gehen 8 Jahre zurück, wo Pat. von einer hartnäckigen Coryza, einhergehend mit den gewöhnlichen Erscheinungen der Nasenstenose und Anosmie, befallen wurde. Die befallene Seite war die rechte. Die Beschwerden des Pat. hatten einen langsamen, aber progressiven Verlauf, so daß die Angehörigen die Anwesenheit eines Polypen argwöhnten. Außer durch die Schwierigkeit der Atmung durch die Nase begann L. vor ungefähr 3 Jahren durch ein unangenehmes Gefühl der Trockenheit in der Kehle, wodurch ein gereizter Husten hervorgerufen wurde, belästigt zu werden. Seit 1½ Jahren leidet er unter einer bedeutenden Erschwerung der Atmung, die in den letzten Monaten noch zunahm und ihn namentlich des Nachts quält. Seitdem haben sich zu den Atembeschwerden die der Lautbildung gesellt. Diese waren zuerst ebenfalls geringgradig, haben sich dann aber nach und nach verschärft.

**Objektive Untersuchung.** Mann von kräftigem Körperbau. Nichts zu Lasten der Drüsen des Halses oder anderer Regionen. Thorax, Herz und Bauchorgane normal. Nichts Abnormes im Harn.

**Blutuntersuchung.** Nichts Abnormes, bis auf einen gewissen Grad von Eosinophilie (5 Proz.).

Atmung durch die Nase unmöglich, durch den Mund stertorös.

**Vordere Rhinoskopie.** Die Nasengruben erscheinen nach Befreiung von ihrem zu übel riechenden Krusten eingedickten Sekret durch kleine, harte, mäßig blutende Knötchen von dunkelroter Farbe verstopft.

**Hintere Rhinoskopie.** Bei der hinteren Rhinoskopie werden 3 große, untereinander gut distinkte Knötchen nachgewiesen. Zwei von ihnen, von der Größe einer Haselnuß, verlegen die Choanen und berühren die Tubaröffnung der Ohrtrompeten.

Das 3. kleinere Knötchen liegt im Zentrum der Rachenwölbung. Die fraglichen Knötchen haben dieselben Charaktere wie die endonasalen Knötchen.

Untersuchung der Mundhöhle. Nichts Abnormes, bis auf ein bohnen-großes Knötchen in der Mitte des rechten hinteren Pfeilers (s. Fig. 1). Die freie Oberfläche dieses Knötchens nach dem Isthmus faucium zu zeigt sich ulzeriert. Bei der Palpation mit dem Finger erweist sich das Rachenknötchen von charakteristischer elfenbeinartiger Härte.

Laryngoskopische Untersuchung. Die Stimmbänder erscheinen geschwollen, von graulichroter Farbe. Die Anschwellung der Stimmbänder setzt sich nach unten in eine ähnliche Anschwellung der Gegend unter dem Stimmapparat fort. Bei forzierter Inspiration zeigt sich der Stimmritzenraum bedeutend verengt.

Wassermannsche Reaktion negativ.

Auf Grund der anamnästischen Daten und ganz besonders auf Grund der Eigenschaften der oben beschriebenen Läsionen wird die Diagnose auf Rhinopharyngolaryngosklerom gestellt. Diese Diagnose wurde, wie wir sehen werden, durch die bakteriologische Untersuchung der exzidierten Stücke bestätigt.

Am 6. Jan. 1913 wird Pat. der Behandlung mit Röntgen-Strahlen unterzogen. Die Bestrahlung wird nach den üblichen Regeln der Röntgen-Therapie abwechselnd auf die Regionen der Nase und in der Unterzungenbeingegegend vorgenommen. Dauer der Sitzungen 15–20'. Im ganzen wurden in dem Zeitraum von ungefähr 40 Tagen 8 Bestrahlungen vorgenommen. Die nach dieser Behandlung erzielte Besserung war beträchtlich, so daß sich Pat. entschloß, in seinen Heimatsort zurückzukehren.

21. Mai 1914. Nach 1 Jahr und 4 Monaten kehrt Pat. in die Klinik zur Untersuchung zurück. Die Symptome zu Lasten des Ohres, der Nase und der Kehle sind sehr zurückgegangen. Die Atmung ist nicht mehr stertorös, das Gehör ist besser geworden, die Atmung durch die Nase möglich bei geschlossenem Munde.

Während seines Aufenthaltes in der Klinik willigte Pat. in die Abtragung von krankhaftem Gewebe. Die exstirpierten Stückchen stammen zum Teil von dem vollkommen zugänglichen Pharynxknötchen, zum Teil von denen des Larynx. Einige davon dienten zur Herstellung von Kulturen und zu Verimpfungen, andere wurden zweckmäßig für die mikroskopische Untersuchung fixiert (absoluter Alkohol, Regaudsche Flüssigkeit etc.).

Bakteriologische Untersuchung. Mit Stückchen und Brei des skleromatösen Gewebes machte ich Ausstriche auf schrägem Agar. Diese gaben nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank flächenhafte Entwicklung eines Belages von schleimigen konsistentem Aussehen. Bei den sukzessiven Ueberimpfungen wurde bereits nach 24 Std. die Entwicklung von isolierten, rundlichen Kolonien von demselben Aussehen beobachtet, die derart verschmolzen, daß sie eine gleichmäßige Schicht bildeten. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurde eine Reinkultur von plumpen Bazillen gefunden, von denen einige noch die Kapsel bewahrten. Sie waren nicht grambeständig und wurden durch Vergleichung mit anderen Kulturen aus dem Istituto sieroterapico milanese und dem Institut Pasteur als Bazillen des Rhinoskleroms identifiziert.

Nach dem Gelingen der Kulturen schritt ich zu den Verimpfungen des skleromatösen Gewebes. Zu diesem Zweck injizierte ich in die vordere Kammer eines Kaninchens von 2 kg Gewicht wenige Tropfen einer



Fig. 1.

Emulsion des genannten Gewebes in physiologischer Kochsalzlösung. Bei einem anderen Kaninchen von ungefähr demselben Gewicht beschränkte ich mich auf die Vornahme der Hornhauttätowierung.

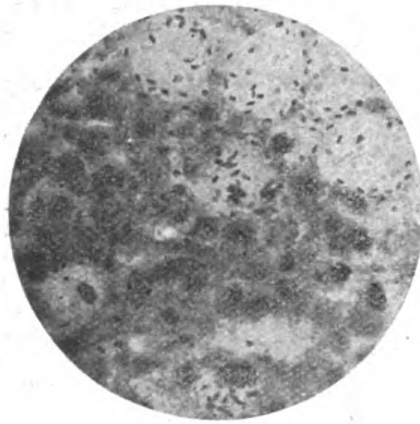


Fig. 2.

Bei dem Kaninchen, bei dem die Injektion vorgenommen worden war, bildete sich gleich in den ersten Tagen ein Hypopyon und eine beträchtliche Gefäßreaktion zu Lasten der Bulbus- und Lidbindehaut aus. Bei dem Kaninchen dagegen, bei dem die Hornhauttätowierung gemacht worden war, war unter einer geringeren Gefäßreaktion die Bildung von punktförmigen Leukomen zu beobachten.

Die exstirpierten Augen wurden in Formalin - Kaliumbichromat - Essigsäurelösung fixiert. Trotz sorgfältiger Untersuchung war es nicht möglich, darin Bildung von Skleromknötchen zu beobachten. Ebenso wenig konnten Bazillen aufgefunden werden.

Da, wie wir sahen, die von uns vorgenommenen Strichkulturen auf Agar positiv für den Bazillus des Rhinoskleromas ausgefallen waren, schritten wir zur Färbung der genannten Bazillen an Schnitten. Hierzu

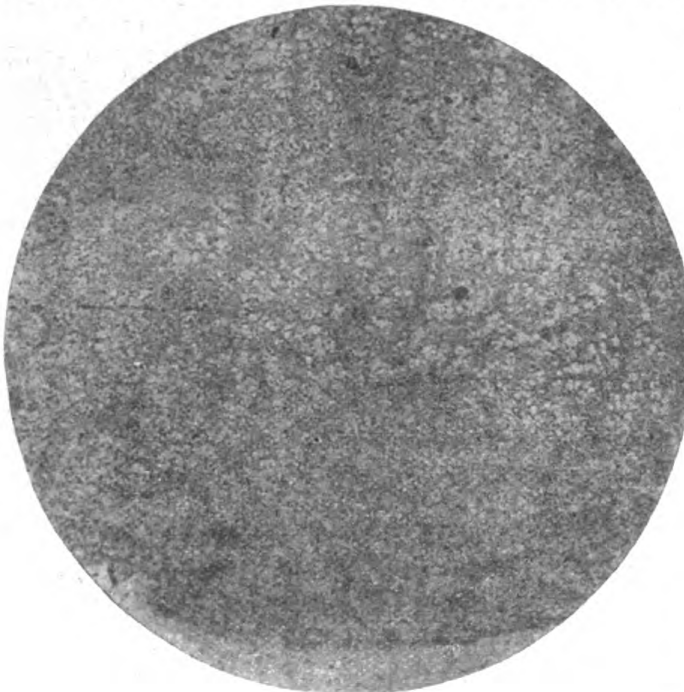


Fig. 3.

benutzten wir Schnitte von in absolutem Alkohol fixierten Stücken unter Anwendung der klassischen Methode von Unna (polychromes Methylblau 70, 1-proz. wässrige Safraninlösung 30), die bekanntlich die Kapseln und hyalinen Massen rot und die Bazillen blau färbt. Trotz aller Bemühungen aber war es uns nicht möglich, die Bazillen zu färben. Auch sonstige Färbungen versagten.

Wir verwendeten nun Schnitte von in Regaudscher Flüssigkeit fixierten und einer langen (9—11-tägigen) Chrombehandlung unterzogenen Stücken, und

zu unserer größten Verwunderung gelang es uns, bei Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain im Innern der Mikuliczschen Zellen kurze, zuweilen mit einer Kapsel versehene Stäbchen nachzuweisen, die nur als Bazillen des Rhinoskleroms identifiziert werden konnten (s. Fig. 2).

Diese Bazillen liegen manchmal an den Knotenpunkten des Netzes der Mikuliczschen Zellen, manchmal an der Peripherie derselben, andere Male endlich füllen sie, untereinander dicht gedrängt, die Va-

kuolen der genannten Elemente aus. Zum Unterschied zu den Angaben einiger Autoren (Schriddle usw.) konnten wir nie Bazillen im Innern der normalen oder in Entartung begriffenen Plasmazellen auffinden, ebenso wenig in den hyalinen Kugeln und im Deckepithel oder seinen Sprossen.

In bezug auf die Struktur des Rhinoskleroms werden wir kurz auf die Entstehung der Mikuliczschen Zellen eingehen. Bekanntlich sind dies mehr oder weniger kugelförmig angeschwollene, meist fein retikuliert Zellen mit pyknotischem Kern, der häufig an die Peripherie gedrängt ist. Sie fehlen nie in den gut entwickelten Skleromknötchen (s. Fig. 3) und scheinen in den oberflächlichen Partien des Granuloms am häufigsten gefunden zu werden. Sie fehlen oder sind recht spärlich in den jungen Gebilden, in denen die granulomatöse Infiltration vorwiegend eine lymphozytäre ist (s. Fig. 4).

Die Mikuliczschen Zellen zeigen, wie gesagt, häufig ein recht zartes Retikulum, in dessen Knotenpunkten die Bazillen und zahlreiche Vakuolen liegen; andere Male sind sie in eine einzige große Höhle (Hohlzelle) verwandelt. Häufig gehen sie mit einer beträchtlichen Anzahl von Plasmazellen einher. Infolge dieser Beziehungen der Nachbarschaft meint

Schriddle, daß die Mikuliczschen Zellen von den Plasmazellen abstammten, von denen sie ein degeneratives Stadium darstellen sollen. Die Entartung der Plasmazellen sollte so-

dann nach Schriddle auf der Wirkung der Toxine der in sie eingedrungenen Bazillen beruhen. Es könnte jedoch vorkommen, daß die fragliche Entartung auch auf der Fernwirkung der Bakterien beruhte. In dem einen wie in dem anderen Falle soll es sich um eine schleimige Entartung handeln. Wir glauben nun, daß die Tatsache, daß die Mikuliczschen Zellen in Begleitung von Plasmazellen gefunden werden, uns nicht ohne weiteres berechtigen kann, die ersteren als konstant und ausschließlich von den letzteren abstammend zu betrachten, und zwar auch deshalb, weil, im Gegensatz zur Behauptung Schriddles, da, wo keine Plasmazellen gefunden werden, sehr wohl recht zahlreiche Mikuliczsche Zellen gefunden werden können. Ein weiterer Grund, der es uns wenigstens für wenig wahrscheinlich halten läßt, daß die Mikuliczschen Zellen konstant von den Plasmazellen abstammen, liegt darin, daß es uns in den normalen wie in den in Entartung begriffenen Plasmazellen nie möglich gewesen ist, Bazillen anzutreffen, während diese häufig in den Mikuliczschen Zellen aufgefunden werden.

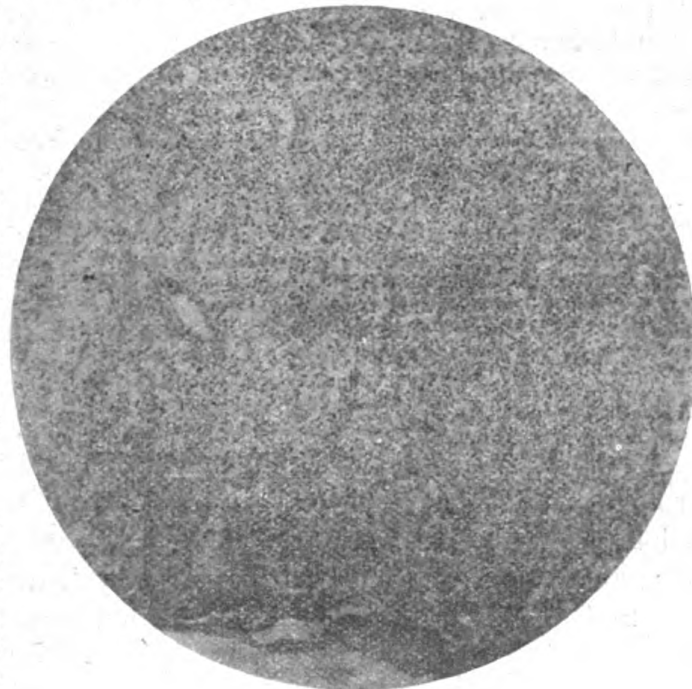


Fig. 4.



Wenn aber die obengenannten Gründe uns wenigstens an der Absolutheit der Schriddeschen Behauptung zweifeln lassen, so nähert uns der von diesem Autor mit Hilfe des polychromen Methylenblaus sowohl in den Plasmazellen wie in den Mikuliczschen Zellen häufig gemachte Befund (schleimige Entartung) und ganz besonders die Tatsache, daß er im skleromatösen Gewebe Uebergangsstadien zwischen der einen und der anderen Zellform beobachtete, der Meinung des vorgeannten Autors und läßt uns mit ihm annehmen, daß von den Mikuliczschen Zellen einige von den Plasmazellen abstammen.

Nicht zu bezweifeln ist jedoch, daß außer den Plasmazellen auch andere Elemente zu den Mikuliczschen Zellen führen können. Es handelt sich um die gewöhnlichen Bindegewebszellen. An diesen Elementen werden namentlich in jenen Bezirken, wo sie Makrophagenfunktion annehmen, charakteristische Veränderungen des Kernes und der Cytoplasmamasse beobachtet. Der Kern wird aus einem runden oder ovalen zu einem abgeplatteten und pyknotischen, und im Cytoplasma beginnt das zarte, charakteristische Netz der Mikuliczschen Zellen sich abzuzeichnen. Das zuerst auf eine Zone des Cytoplasmas beschränkte Netz nimmt es schließlich ganz ein. Im bindegewebigen Element, mag es nun in Makrophagenphase stehen oder nicht, scheint die Alteration des Cytoplasma zuerst aufzutreten. Auf sie würde die des Kernes folgen. Außerdem scheinen die bindegewebigen Elemente, die dazu bestimmt sind, Mikuliczsche Zellen zu werden, häufig partiellen Prozessen der schleimigen Entartung (ihres Cytoplasmas) anheimzufallen, die bei Färbung der Schnitte mit Toluidin gut wahrnehmbar sind.

#### Zusammenfassung.

1) Die Regaudsche Methode für den Nachweis der Mitochondrien ermöglicht einen deutlichen Nachweis der Frischschen Bazillen in den Schnitten von skleromatösem Gewebe. Diese Methode hatte stets Erfolg, auch wenn alle anderen Verfahren vollständig versagten.

2) Die Mikuliczschen Zellen leiten sich, im Gegensatz zur Annahme Schriddes, nicht konstant aus der schleimigen Entartung der Plasmazellen ab, sondern können auch durch Alterationen bindegewebiger Elemente, namentlich in der Makrophagenphase, entstehen.

Palermo, März 1915.

*Nachdruck verboten.*

## Ein Jahr Anophelenbeobachtung.

Von Haus Osterwald und Ernst Tänzer.

Prell hat in seiner grundlegenden Abhandlung „Biologische Beobachtungen an Anopheles in Württemberg“ (4) wertvolle Beiträge zur Biologie unserer deutschen Anopheles-Arten geliefert und den Beweis erbracht, daß sich Anopheles bei uns besonders in Viehställen aufhält, dagegen in den menschlichen Wohnräumen weniger anzutreffen ist. Wir können auf Grund eigener Beobachtungen in Halle und Umgebung Prells Angaben vollauf bestätigen. Ueber die möglichen Gründe

für diese Bevorzugung der Ställe haben wir uns schon an anderer Stelle (6) geäußert.

Da sich nun bei Prell keine Angaben über die Verteilung und das Verhalten der Anophelen im Verlaufe der einzelnen Jahreszeiten finden, hielten wir es für angebracht, die Anophelen an einer bestimmten Oertlichkeit im Laufe eines ganzen Jahres zu beobachten. Daneben dehnten wir unsere Untersuchungen auch auf andere Lokalitäten der Umgebung aus.

Als Ort für unsere fortlaufenden Beobachtungen wählten wir die nicht allzuweit von Halle gelegene Sonnemannsche Ziegelei bei Ammendorf<sup>1)</sup>. Sie liegt in dem uns von unseren Larvenbeobachtungen (3) her bekannten Anophelengebiet der Gerwische, ca. 300 m von der letzteren entfernt. Von März 1919 bis März 1920 besuchten wir allmonatlich einen zur Ziegelei gehörenden Stall. Der Raum ist ca. 40 qm groß und ca. 2½ m hoch. In ihm sind 3 Einzelställe abgeteilt. Er ist unten mit Steinen ausgesetzt und mit einer Holzbalkendecke versehen. Zwei niedrige Fenster erhellen den Raum notdürftig. An der Decke und in den Ecken hängen dichte Spinnweben. Unsere Besuche fielen stets auf den Nachmittag.

Unser erster Besuch war Mitte März 1919: In dem einen Raum war ein Pferd untergebracht. Sonst befanden sich im Stalle keine Haustiere. Wir fanden zahlreiche *Anopheles maculipennis*-Weibchen. Viele von ihnen hatten Blut gesogen. Wenn auch die Tiere überall im Stalle vorkamen, fanden sie sich doch vorwiegend in den dunklen Ecken, wo sie an den Spinnweben hingen.

April: Derselbe Befund. — Ende Mai: Wenig Tiere. — Ende Juni: Sehr viel Tiere, vollgesogen und mit legereifen Eiern. — Juli: Anophelen zahlreich, doch weniger als im Juni, im ganzen Stall nur 1 *Anopheles maculipennis*-Männchen. — August: *Anopheles* mittelhäufig, außerdem ziemlich zahlreich *Culex cantans* und *C. pipiens*. — September: *Anopheles* ziemlich häufig, einige *Culex pipiens*. — Oktober: *Anopheles* ziemlich zahlreich, mit Eiern. Einige *Culex pipiens*, 1 *Theobaldia annulata* mit Eiern. In der Besiedlung des Stalles war nunmehr eine Veränderung eingetreten. An Stelle des Pferdes waren Kaninchen, Ziegen, Schweine und Geflügel eingezogen. — November: Infolge der Unterbringung von Schweinen ist der Stall recht feucht geworden, so daß zahlreiche Wassertropfen an der Decke hängen. Die Anophelen fehlen an den feuchten Stellen und finden sich jetzt nur noch in dem trockenen Ziegenabteil. Hier sitzen sie gehäuft, einige haben sich mit frischem Tierblut vollgesogen. — Dezember: In dem trockenen Ziegenabteil *Anopheles* ziemlich zahlreich und lebhaft. Vereinzelt mit Blut. — Januar 1920: *Anopheles* wiederum nur in dem trockenen Ziegenabteil, etwas weniger zahlreich als im Dezember, nur vereinzelt mit frischem Blut vollgesogen. — Februar wie im Januar. — März: *Anopheles* nur in dem Ziegenabteil, mäßig zahlreich, die meisten Tiere vollgesogen und mit legereifen Eiern.

Fassen wir das Ergebnis dieser Beobachtungen zusammen und stellen wir es in Parallele zu Untersuchungen an anderen Oertlichkeiten, so erhalten wir folgendes Resultat:

1) In der Sonnemannschen Ziegelei, wie in den meisten anderen Ställen, fanden wir nur *Anopheles maculipennis*, daneben kam aber, wenn auch vereinzelt, *Anopheles bifurcatus* vor (Ammendorf, Passendorf, Merseburg). In einigen Ställen (Frankleben, Zscherben [südlich Merseburg]) wurde jedoch nur *Anopheles bifurcatus* gefangen.

2) Die Anophelen lieben trockene, warme Ställe mit dunklen Ecken, wo ihnen zahlreiche Spinnweben reichlich Gelegenheit zum Anhängen bieten. Das mag, wie wir schon an anderer Stelle (6) ausgeführt haben, ein Hinweis darauf sein, daß sich durch eine geeignete Stallhygiene die Anophelenplage in den Ställen erheblich herabmindern läßt. Wenn die ge-

1) Frau Sonnemann sprechen wir für ihr weitgehendes Entgegenkommen auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank aus.

fangenen Mücken im Glase durch Vertrocknen zugrunde gehen, so ist damit noch kein Widerspruch zu dem Gesagten zu erblicken, da selbst ein trockener Stall durch die tierischen Ausdünstungen noch relativ wasserdampfhaltig ist. Will man gefangene Mücken längere Zeit am Leben halten, so verfährt man am besten nach den von Eysell (8) angegebenen Methoden.

Im Sommer, während der Zeit der größten Mückenhäufigkeit, sind die Anophelen in der Wahl ihres Aufenthaltsortes am wenigsten wählerisch, so daß man sie dann auch in hellen Ställen findet, ganz besonders, wenn diese Ställe in unmittelbarer Nähe günstiger Brutplätze liegen (Collenbey).

3) Die Anophelen hatten, wenn auch vereinzelt, selbst in den Wintermonaten Blut gesogen. Es scheint somit zwischen ihnen und den Culiciden, die den Winter in Kellern verbringen, ein Unterschied zu bestehen. Dieser erklärt sich wohl daraus, daß *Anopheles* in den Ställen selbst im Winter etwas lebhafter ist als *Culex* in den kühlen Kellern und infolgedessen bei ihm das Nahrungsbedürfnis gesteigerter ist als bei *Culex*.

4) In den Ställen wurden wir nie von den Anophelen gestochen, obwohl wir sie durch Aufscheuchen dazu veranlassen wollten. Dagegen wurde einer von uns Ende August 1919 in Bad Lauchstädt in der Nähe des Kurparkteiches, in dem wir bereits 1918 *Anopheles*-Larven festgestellt hatten (3), abends gegen 7 Uhr bei Eintritt der Dämmerung im Freien von einem *Anopheles bifurcatus* gestochen. Es wird dadurch wieder einmal die bekannte Erfahrung bestätigt, daß die Anophelen in unseren Breiten im Freien wohl den Menschen stechen, indessen aber Tierblut bevorzugen. Metz (7) fand für *Anopheles crucians* in Nordamerika ein ähnliches Verhalten.

Die gefangenen Anophelen sogen regelmäßig bereitwilligst an dem zum Stechen gebotenen Finger, auch im Winter. Im Dezember war jedoch die Stechlust am größten. Am häufigsten stachen die Anophelen in den frühen Abendstunden. Hierfür kann als Grund nicht lediglich die Dunkelheit in Frage kommen, da das Stechen stets bei dem Scheine einer elektrischen Taschenlampe beobachtet wurde. Unterschiede in der Stichwirkung waren in bezug auf die verschiedenen Jahreszeiten nicht zu konstatieren. Stets fanden wir aber unsere Erfahrung, daß der Einstich kaum merklich ist, bestätigt.

5) Wie in der Ziegelei von Sonnemann, so fanden wir auch in zahlreichen anderen untersuchten Ställen, daß neben den Weibchen auch noch Männchen vorkamen. Deren Zahl war aber im Verhältnis zu der der vorgefundenen Weibchen sehr gering, auch fanden wir sie nur im Sommer (Juni—September). Man kann vermuten, daß *Anopheles* den größten Teil seines Lebens im Stall verbringt, in dem oder wenigstens in dessen Nähe die Begattung erfolgt und daß die Weibchen den Stall nur verlassen, um ihre Eier abzulegen.

6) Die geringe Individuenzahl im Mai ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Ueberwinterungstiere im April ausgeflogen waren, ihre Eier in der nahen Gerwische abgelegt hatten und gestorben waren, während die erste Brut noch nicht herangewachsen war.

7) Während der Wintermonate waren die gefangenen Weibchen nicht zur Eiablage zu bringen, trotzdem ihnen genügende Wärme im Zimmer geboten wurde. Erst im März legten eingezwungene Weibchen Eier ab. Die ersten *Anopheles*-Larven wurden auch 1919 wieder Anfang Mai

beobachtet. Diese Feststellungen können die eben ausgesprochene Vermutung weiter stützen; man kann also das Ausfliegen der überwinterten Weibchen vermuten in den Monaten März—Mai.

8) Aus den Imaginesbeobachtungen ergibt sich ebenso wie aus unseren Larvenuntersuchungen 1918 (5, S. 30), daß von Generationsperioden keine Rede sein kann; denn die Anophelen zeigten während der einzelnen Monate in ihrer Zahl keine auffallenden Schwankungen in der Häufigkeit. Dasselbe ergab sich aus unseren Larvenbeobachtungen 1919. Wir beobachteten auch in diesem Jahre wieder den uns durch seine Häufigkeit an Anopheleslarven schon bekannten „Anopheles-Graben“ bei Passendorf. In dem unter No. 144 unserer früheren Arbeit (3) erwähnten Grabenabschnitt hatte sich wieder ein dichter Pflanzenwuchs eingestellt (grasartiges Laichkraut). Am 13. Mai, 9. Juli, 23. Juli fanden wir Anopheles-Larven in den verschiedensten Altersstadien<sup>1)</sup> gleichzeitig beieinander. Als am 16. Aug. die Pflanzen entfernt waren, fehlten sofort die Anopheles-Larven. Dadurch wird die schon früher aufgestellte Behauptung, daß die Anopheles-Larven Gewässer mit dichtem Pflanzenwuchs bevorzugen, erneut bestätigt. In den hinteren Abschnitten des Anopheles-Grabens fanden sich Anopheles maculipennis-Larven bis zum 9. Okt. (spärlich). Auch ergeben die sonstigen Untersuchungen der Tümpel während dieses Jahres, ebenso wie die Imaginesbeobachtungen, daß unsere 1918 gesammelten Erfahrungen hinsichtlich der Generationsperioden nicht etwa extreme Verhältnisse, sondern die Regel darstellen.

9) Unsere Hauptbeobachtungsstelle im Gebiete der Gerwische, wo sich zahlreiche Larvenfundstellen befinden, zeigt das ganze Jahr über Imagines. Im Gegensatz dazu fanden wir im Sommer 1919 in den Gegenden, in denen wir 1918 keine Tümpel mit Anopheles-Larven feststellen konnten (Beesenstedt, Schwittersdorf, Naundorf, Schafstedt, Gebiet östlich von Halle) nicht einen Anopheles in den Ställen. Das bestätigt die Ansicht von Nuttall usw. (2), die wir auch zu unserer eigenen gemacht haben (5), daß nämlich das Fehlen von Larven in den Tümpeln einer Gegend einen sicheren Schluß auf das Nichtvorhandensein von Imagines zuläßt, daß es also berechtigt ist, aus der Verbreitung der Larven Rückschlüsse auf das Vorkommen der Imagines zu ziehen, ohne die Verbreitung der letzteren besonders zu studieren. Dementsprechend fanden sich auch in den Larvengebieten überall Imagines.

10) Während Anopheles maculipennis als Imago überwintert, überwintert, wie bekannt, Anopheles bifurcatus als Larve. Im Winter fanden wir niemals Imagines von Anopheles bifurcatus. Leider war es uns nicht möglich, im Winter in den Tümpeln, in denen wir im Sommer Anopheles bifurcatus festgestellt hatten, Larven zu finden, trotz Aufwühlens des Bodens. Jedoch sprechen die Funde von A. bifurcatus-Larven im 3. und 4. Stadium Ende Februar für das Ueberwintern im Larvenzustand.

11) Ueber die Lebensdauer der Imagines können wir leider keine bestimmten Angaben machen. Doch müssen die überwinterten Weibchen mehrere Monate am Leben bleiben. Einige eingezwängerten Anopheles maculipennis-Weibchen, die Ende September gefangen waren, lebten, ungefüttert bis Anfang Januar, als sie infolge unvorhergesehener Heizung des betreffenden Zimmers eingingen.

1) Mit Hilfe der aus unserer früheren Arbeit (No. 5) gewonnenen Unterscheidungsmerkmale der 4 aufeinanderfolgenden Larvenstadien bestimmt.



**Literatur.**

- 1) Galli-Valerio, B., 16 Jahre Untersuchungen über Kuliziden und Malaria. (Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 22. 1918. H. 9.) — 2) Nuttal, Cobbett, Strangeways-Pigg, Studies in relation to Malaria. I. The geographical distribution of Anopheles in relation to the former distribution of ague in England. (Journ. of Hyg. Vol. 1. 1901.) — 3) Osterwald, H., u. Tänzer, E., Ueber die Verbreitung von Anopheles in der Umgebung von Halle. (Mitt. d. Naturf. Ges. Halle a. S. Bd. 5. 1918.) — 4) Prell, H., Biologische Beobachtungen an Anopheles in Württemberg. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 13. 1917/18.) — 5) Tänzer, E., u. Osterwald, H., Anopheles und Malaria in Halle. (2. Beih. z. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 23. 1919.) — 6) Dies., Ist mit einer weiteren Verbreitung der Malaria in Deutschland zu rechnen oder nicht? (Deutsch. med. Wochenschr. 1919. No. 25.) — 7) Metz, C. W., Anopheles crucians habits of larvae and adults. (Treas. Departm. U. S. Publ. Health Service, repr. No. 495 from the public Health repr. 1918. p. 2156—2169.) — 8) Eysell, A., Ueber Fang, Aufbewahrung und Versand von Stechmücken. (Insektenbörse. Jahrg. 21. 1904.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung einiger neuer Silberpräparate.

[Aus der Serumabteilung der Chemischen Fabrik von E. Merck in Darmstadt (Leiter: Dr. Wilhelm Eichholz).]

Von H. Bernhard, prakt. Tierarzt.

### A. Allgemeiner Teil.

#### 1. Einleitung.

Schon im Altertum war die günstige Wirkung von metallischem Silber auf Wunden bekannt, und bis heute noch hat sich der Brauch, Wunden zur besseren Heilung mit Silberstücken zu bedecken, in der Volksmedizin erhalten. Um die Ursache dieses merkwürdigen Verhaltens Wunden gegenüber aufzuklären, wurden von einer Reihe von Forschern Untersuchungen mit metallischem Silber angestellt, aus denen hervorging, daß dem Silber eine nicht unerhebliche antibakterielle Wirkung zukommt.

Das Wesen der antibakteriellen Silberwirkung wurde aber von den meisten Autoren falsch gedeutet. Erst Thiele und Wolf gaben die richtige Erklärung dafür. Sie fanden, daß Silber, Quecksilber und Kupfer in kompaktem Zustand antiseptische Eigenschaften besitzen, ohne daß ihre Substanz sich dabei in wägbarer Menge verringert hätte. Eine weitere Reihe von Versuchen wurde mit Metallen angestellt, die untereinander leitend verbunden, bzw. miteinander verrieben waren. Es zeigte sich hier, daß die Wirkung des Silbers erhöht wird, wenn man es mit elektronegativen Metallen (Palladium, Platin, Gold) oder Kohle leitend verbindet. Das Ergebnis der Untersuchungen fassen sie in folgenden Sätzen zusammen:

1) „Bakterienschädigende Einflüsse von Metallen entstehen im allgemeinen infolge der Auflösung der betreffenden Metalle im Nährboden.

Das Maß der Schädigung ist durch die Menge und Giftigkeit der entstehenden Salze bedingt.

2) Die bakterienschädigende Einwirkung des Silbers wird dadurch erhöht, daß man es mit elektronegativen Metallen oder Kohle leitend

verbindet, es also als Anode dem Nährboden auflegt. Die Wirkung tritt hierbei dadurch ein, daß Silber in Lösung geht.“

Da nach diesen Versuchen die antibakterielle Wirksamkeit des Silbers hinreichend sichergestellt war, kamen Credé und Beyer, auf der Suche nach einem Mittel zur allgemeinen Körperdesinfektion, auf den Gedanken, daß metallisches Silber, direkt ins Blut und die Gewebssäfte gebracht, daselbst Verbindungen bilden müsse, die bakterizide Wirkung entfalten und somit eine allgemeine Körperdesinfektion herbeiführen könnten. Die Voraussetzung zu dieser Vermutung war, daß Silber sich in eine lösliche Form bringen ließ. Die von der Chemischen Fabrik von Heyden in Radebeul bei Dresden angestellten Versuche führten zur Herstellung des Argentum colloidal oder Kollargols.

Kolloides Silber war indessen schon früher dargestellt worden, und zwar 1883 von dem amerikanischen Chemiker Carey Lea. Das Argentum colloidal von Lea war jedoch sehr unrein und gar nicht haltbar, so daß es für medizinische Zwecke nicht in Frage kam.

Die Herstellung des Kollargols erregte seinerzeit nicht geringes Aufsehen und rief bei Aerzten und Chemikern allgemeines Interesse hervor. Es dauerte gar nicht lange, so tauchten neue, ähnliche Präparate auf, deren Zahl sich heute kaum noch übersehen läßt. Von den bekanntesten seien hier erwähnt das Itrol, Aktol, Ichthargan, Albargin, Protargol, Argentamin und Argonin. Die meisten sind fast ebenso schnell verschwunden, wie sie aufgetaucht waren, nur das Kollargol und Protargol haben sich in der Praxis einen Namen erringen können.

In der jüngsten Zeit wurden nun von der Firma E. Merck in Darmstadt 2 neue Silberpräparate in die Heilkunde eingeführt, das Argochrom und das Choleval. Diese beiden Präparate auf ihre bakteriologische Wirksamkeit hin zu prüfen, hatte ich mir im wesentlichen als Aufgabe gestellt, zumal das erste in den letzten Jahren auch in der Veterinärmedizin Bedeutung erlangt hat. Zum Vergleich wurden die beiden älteren Silberpräparate Kollargol und Protargol herangezogen.

Der Gegenstand der folgenden Untersuchungen ist also die Prüfung der bakteriziden und antiseptischen Wirkungen des Argochroms, Cholevals, Protargols und Kollargols, sowie ein Versuch zur Erklärung des Chemismus der Silberdesinfektion im Organismus. Zur Charakterisierung dieser Präparate will ich zunächst die über ihre Natur bekannten Tatsachen mitteilen.

### 1. Argochrom.

Das Argochrom stellt eine von A. Edelmann und A. v. Müller angegebene und in die Praxis eingeführte Farbstoffmetallverbindung dar, und zwar entsteht es durch Vereinigung von Methylenblauinitrat und Silbernitrat unter gewissen Bedingungen. Es ist ein braunes, in auffallendem Lichte grünlich schimmerndes, ca. 20 Proz. Silber enthaltendes Pulver, das sich bis zu 2 Proz. gut in Wasser mit tiefblauer Farbe und neutraler Reaktion löst. Warmes Wasser beschleunigt die Auflösung. Auch in Alkohol und Glycerin ist das Präparat löslich.

Die große Affinität des Methylenblaus zur Bakterienzelle und die antiseptischen Eigenschaften des Silbers ließen von einer Kombination Farbstoff—Metall günstige Wirkung auf Bakterien erwarten. Nach Edelmann und v. Müller soll der Farbstoff die Schiene bilden (Schientheorie von Ehrlich), auf der das Silber zur Bakterienzelle gelangt, außerdem hielt man eine gegenseitige Wirkungssteigerung (Potenzierungstheorie nach Bürgi) der Bestandteile nicht für ausgeschlossen. Hassenkamp bestätigt diese Vermutung, indem er Abtötungsversuche mit Paramazien anstellte. Danach wurden die Abtötungszeiten einer bestimmten Silbernitratmenge durch Zusatz einer für sich unwirksamen Farbstoffmenge wesentlich verkürzt. Nach Edelmann und v. Müller wirkt Argochrom auf die gewöhnlichen Eitererreger (Staphylokokken und Streptokokken), auf *Bacterium coli* und Fäulnisbakterien noch bei einer Verdünnung von 1:160 000 keimtötend. Im Blute, wo viele Antiseptika versagen,

soll es in einer Verdünnung von 1:80000 noch stark entwicklungshemmend sein. Versuche, die Pollag an dem bakteriologischen Institut der Universität Halle anstellen ließ, ergaben Entwicklungshemmung auf Staphylokokken bis zu einer Verdünnung von 1:200000, auf Streptokokken sogar bis 1:500000. Eine 0,1-proz. Lösung tötete Streptokokken in 20 Min., eine 0,5-proz. und 1-proz. Lösung Streptokokken bereits in 5 Min. ab.

Das Argochrom wurde von Edelmann und v. Müller bei Staphylokokken- und Streptokokkensepsis mit gutem Erfolg angewandt, außerdem während des Krieges bei Malaria, Typhus und einer Reihe anderer Infektionskrankheiten. Auch als Antigonorrhöikum hat es wegen seiner ausgezeichneten Tiefenwirkung bereits mit gutem Erfolg Verwendung gefunden.

Die gebräuchlichste Anwendung, besonders bei septischen Erkrankungen, ist die intravenöse Einspritzung, und zwar in Form einer 1-proz. wässrigen Lösung. Die Lösung in physiol. Kochsalzlösung ist wegen der Reaktion des Präparates mit NaCl nicht angezeigt. Argochrom ist wegen seiner geringen Giftigkeit der Körperzelle gegenüber auch in stärkeren Konzentrationen ein für den Organismus vollkommen unschädliches Desinfektionsmittel.

In der Veterinärmedizin liegen ebenfalls, wenn auch noch spärliche, Berichte über die günstige Heilwirkung des Argochroms vor. Krämer behandelt 20 an Druse erkrankte Pferde mit Methylenblausilber mit gutem Erfolg. Ferner finde ich weiter günstig lautende Angaben bei Behandlung von Blutfleckenkrankheit, Septikämie im Anschluß an eine Kastration, bei fieberhaften Phlegmonen usw.

## 2. Choleval.

Choleval ist ein nach den Angaben von Dufaux hergestelltes, kolloidales Silberpräparat mit gallensaurem Natrium als Schutzkolloid. Da es in der zuerst in den Verkehr gebrachten flüssigen Form nicht haltbar war, wird es jetzt in fester, unbegrenzt haltbarer Form geliefert. Es enthält 10 Proz. Silber und bildet ein geruchloses, fast schwarzes, aus kleinen Lamellen bestehendes Pulver, das sich viel leichter als alle anderen Silberverbindungen in Wasser mit schwach alkalischer Reaktion löst. Seine therapeutische Verwendung beschränkt sich hauptsächlich auf die Gonorrhöbehandlung. Nach den Untersuchungen von Löhlein sind die gallensauren Salze nicht nur energische Vernichter der Gonokokken, sondern sie lösen auch die entzündlichen Sekrete und Eiterkörperchen auf. Dadurch werden die in den Eiterkörperchen eingeschlossenen Erreger der bakteriziden Wirkung des Silbers zugänglich gemacht. Das gallensaure Natrium erfüllt also in dem Choleval nicht nur die Aufgabe eines Schutzkolloides, sondern die antibakterielle Wirkung des Silbers erfährt durch dieses eine wertvolle Ergänzung.

Dufaux ließ Choleval und zum Vergleich Protargol, Albargin und verschiedene kolloide Silberlösungen auf Staphylokokken, Gonokokken und Trippereiter einwirken und stellte eine bedeutende Ueberlegenheit des Cholevals gegenüber den anderen Antigonorrhöicis auf. Während eine 1,3-proz. Protargollösung eine Staphylokokkenkultur in 120 Min. noch nicht ganz zum Absterben brachte, gelang dies mit einer 1,43-proz. Cholevallösung bereits in 30 Min.

## 3. Protargol.

Das Protargol wurde auf Veranlassung Neissers von der Chemischen Fabrik vorm. Friedr. Bayer & Co. in den Handel gebracht und stellt eine Silbereiweißverbindung dar. Es ist ein staubfeines, hellgelbes, schwach metallisch schmeckendes Pulver mit 8,3 Proz. Silbergehalt, das sich reichlich (bis zu gleichen Teilen) in Wasser löst. Für die Bereitung der therapeutisch zu verwendenden Lösungen ist nach den Angaben Goldmanns die Benutzung von warmem Wasser, wahrscheinlich wegen einer Oxydation der Proteinkörper, zu vermeiden. Nach Goldmann stellt man einwandfreie Protargollösungen in der Weise her, daß man das Protargol auf die Oberfläche des Wassers aufpudert. Die Auflösung dauert ca. 10—15 Min. Während dieser Zeit soll nicht mit einem Glasstab oder Pistill umgerührt werden.

Die Lösungen in Wasser sind braungelb und klar, von schwach alkalischer Reaktion. Durch längeres Stehen bei Tageslicht wird die Flüssigkeit dunkler und leicht getrübt, es tritt jedoch kein Niederschlag ein.

Bakteriologische Versuche mit Protargol hat zuerst Benario mit einer Reihe von Bakterien angestellt; er gelangte zu dem Resultat, daß der Zusatz von 1 ccm einer 0,5-proz. Protargollösung zu 9 ccm Agar die unterste Grenze war, bei der eine Bakterienentwicklung nicht mehr eintrat. Groenouw ist bei Vergleichsversuchen zwischen 2-proz. Silbernitratlösung und 5-proz. Protargollösung zu dem Ergebnis gelangt, daß die beiden Mittel in diesen Konzentrationen auf Gonokokken sich annähernd gleichwertig verhielten. Das Protargol findet in allen Zweigen der Medizin Verwendung, jedoch war es in der Gonorrhöbehandlung seither allen anderen Mitteln überlegen.

#### 4. Kollargol.

Die Herstellung des Kollargols geschah durch Reduktion einer mit zitronensaurem Ammon im Ueberschuß versetzten Lösung von salpetersaurem Silber durch Eisenvitriol, wobei sich das kolloide Silber als feiner schwarzer Niederschlag abscheidet. Dieser wurde nach dem Abhebern der überstehenden Flüssigkeit auf Tonfiltern abgesaugt und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. In diesem Zustand stellt das kolloide Silber schwarzgraue, metallisch glänzende, ca. 87 Proz. Silber enthaltende Stückchen dar, die mit Wasser eine tiefbraune, schon bei sehr starker Verdünnung undurchsichtige Flüssigkeit ergeben.

Während Schlossmann fand, daß die Kollargollösung an Wirksamkeit noch die des Sublimats übertraf, fand Brunner bei seinen Untersuchungen, daß eine Kollargollösung, die Silber im Verhältnis 1:96,6 enthielt, *Staphylococcus pyogenes aureus* erst nach 12 Std. tötete. Dagegen vermochte das Kollargol noch bei einer Verdünnung von 1:6000 entwicklungshemmend auf Staphylokokken einzuwirken. Cohn unterzog auf Grund dieser widersprechenden Resultate das Kollargol einer bakteriologischen Prüfung. Er konnte im wesentlichen die von Brunner gefundenen Resultate bestätigen.

Das Kollargol war von Dieckerhoff in die tierärztliche Praxis eingeführt worden und fand hier früher ausgedehnte Anwendung. So wurden günstige Einwirkungen gesehen bei Phlegmonen, Sepsis nach Wundinfektion, Morbus maculosus, Druse, böseartigem Katarrhalfieber des Rindes, Milzbrand usw.

Bekanntlich erleiden die meisten Desinfektionsmittel beim Zusammenreffen mit eiweißhaltigen Flüssigkeiten eine Einbuße ihrer bakteriziden Wirkung.

Der chemische Desinfektionsvorgang ist als eine Einwirkung des Chemikale auf das Protoplasmaeiweiß der Bakterienzelle aufzufassen. Sind die Bakterien in eiweißhaltigen Medien aufgeschwemmt, so findet das Desinfektionsmittel Gelegenheit, mit dem Eiweiß der Aufschwemmungsflüssigkeit in Reaktion zu treten. So bildet Sublimat z. B. in serum- oder bluthaltigen Flüssigkeiten alsbald unlösliches Quecksilber-eiweiß. Das bekannte rasche Versagen der desinfizierenden Kraft des Sublimats in eiweißhaltigen Flüssigkeiten ist darauf zurückzuführen. Die übrigen Schwermetalle verhalten sich ebenso wie das Hg. Extrazelluläres Eiweiß ist stets ein die Desinfektionskraft von Schwermetallsalzen erheblich herabsetzender Konkurrent der lebenden Bakterienzelle. Jedoch nehmen die Silberverbindungen nach meinen eigenen Versuchen eine Sonderstellung ein. Ag-Verbindungen haben eine starke Affinität zum Chlor. Chlorsilber bildet sich bei dem regelmäßigen Vorhandensein von NaCl in Körperflüssigkeiten stets auch bei Gegenwart von Eiweiß. Die Gegenwart von Eiweiß bewirkt jedoch die Kolloidalisierung des gebildeten AgCl. Diese beiden Tatsachen, die alles andere übertragende Affinität des Ag zum Cl und die starke Neigung des Ag zur Kolloidalisierung, sind von großer Wichtigkeit für die Aufklärung des Chemismus der Silberdesinfektion, wurden jedoch bisher nicht genügend beachtet! Ich habe daher getrennte Untersuchungen in verschiedenen Medien: destilliertem Wasser, physiologischer Kochsalzlösung, Blutserum und bei einem der untersuchten Präparate auch in dialysiertem, d. h. NaCl-freiem Blutserum angestellt.

### B. Experimenteller Teil.

Zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel bedient man sich:

1) Kochs Seidenfadenmethode, 2) Krönig und Pauls Granatenmethode, 3) der Suspensionsmethode, 4) Bechhold und Ehrlichs Agarmethode.

### 1. Kochs Seidenfadenmethode.

Die Seidenfadenmethode nach Koch leidet an dem Uebelstande, daß die Seidenfaser mehr oder minder große Mengen der verschiedenen Desinfektionsmittel adsorbiert, sich mit ihnen „anfärbt“ (Bechhold). Leicht von Seide adsorbierbare Desinfektionsmittel werden also nach dieser Methode stärkere Desinfektionswirkungen ergeben, als ihnen in Wahrheit eigen sind. Die Methode entspricht daher nicht mehr den Anforderungen, die man an eine moderne Prüfungsmethode stellen muß. Aus diesem Grunde habe ich sie bei meinen Versuchen nicht benutzt und glaube auch, von einer näheren Beschreibung dieser Methode absehen zu dürfen.

### 2. Krönig und Pauls Granatenmethode.

Die Granatenmethode nach Krönig und Paul stellt zurzeit die exakteste Methode zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel dar, und zwar gelingt es mit ihr, die zur Verwendung kommenden Bakterien nach dem Ablauf der Einwirkungszeit mit einem Schlage dem Desinfektionsmittel zu entziehen, ohne dabei nennenswerte Mengen von diesem in das Nährsubstrat zu übertragen und die Bakterien, losgelöst von ihrem Nährboden, an Granaten angetrocknet, dem chemischen Agens zu präsentieren. Das Prinzip der Granatenmethode besteht darin, daß Bakterien an böhmische Triergranaten angetrocknet werden.

Nach Laubenheimer eignet sich von den nicht sporenbildenden Bakterien der *Staphylococcus pyogenes aureus* am besten als Testobjekt. Abgesehen von der Bedeutung, die den Staphylokokken als Erreger von Infektionskrankheiten zukommen, zeichnen sich diese durch große Widerstandsfähigkeit gegen chemische und physikalische Einflüsse aus. Sie vertragen von allen asporogenen Bakterien das Austrocknen am besten und bilden auf festen Nährböden scharf abgegrenzte Kolonien, die sich leicht zählen und von zufälligen Verunreinigungen gut unterscheiden lassen.

Nach Laubenheimer nimmt jedoch die Zahl der Keime in den ersten 4 Tagen beständig ab, hält sich bis zum 12. Tag ziemlich konstant, um dann von da an sehr rapide weiter zu sinken. Die Voraussetzung dabei ist, daß die Granaten ständig im Exsikkator über Chlorkalzium gehalten werden und nicht Gelegenheit haben, Luftfeuchtigkeit anzuziehen.

Es ergibt sich hieraus die Forderung, die Granaten möglichst nicht vor dem 4. und nach dem 12. Tag, von ihrer Herstellung an gerechnet, zu Desinfektionsversuchen zu verwenden. Die Widerstandsfähigkeit der Keime bleibt jedoch auch bei starker Abnahme der Keimzahl konstant.

Während bei früheren Desinfektionsversuchen die restlose Befreiung der Testkeime von anhaftendem Desinfizienz auf große Schwierigkeiten stößt, gelingt dies hier, infolge der Impermeabilität der Granaten, verhältnismäßig leicht.

Laubenheimer zeigte, daß es mit Wasser vollkommen gelingt, die den Granaten anhaftende Desinfektionsflüssigkeit zu entfernen und somit jegliche Entwicklungshemmung auszuschließen.

Auch ich glaubte, das Waschen mit Wasser der Verwendung chemischer Mittel vorziehen zu müssen. Denn wenn es auch richtig ist, die den Bakterien anhaftende Desinfektionsmittellösung quantitativ zu entfernen, so ist es nicht nötig und vom praktischen Standpunkt auch nicht richtig, die schon ins Innere der Bakterienzelle eingedrungene Desinfektionslösung, die entweder chemisch in lockerer, reversibler, oder

physikalisch in adsorbierter Form an das Protoplasma gebunden ist, wieder daraus zu entfernen.

Bei der weitaus größten Zahl der von mir angestellten Desinfektionsversuche bediente ich mich der Granatenmethode, und zwar benutzte ich stets den gleichen, aus einem hiesigen Krankenhaus stammenden Staphylokokkenstamm No. 3890.

Auf die Vorzüge der Staphylokokken als Testkeime habe ich bereits hingewiesen. Gonokokken schieden, da sie das Austrocknen nicht vertragen, von vornherein für die Granatenversuche aus. Auch bei den anderen Methoden mußte ich wegen ihrer großen Empfindlichkeit und schweren Kultivierbarkeit auf ihre Verwendung verzichten. Deshalb habe ich Staphylokokken als Testkeime gewählt.

Mit dem im Laboratorium vorhandenen Stamm habe ich zunächst 10 Schrägagarröhrchen beimpft. Nach 24-stünd. Verweilen im Brutschrank bei 37,5° wurde der Bakterienbelag jedes Röhrchens mit 2 ccm sterilem Wasser abgeschwemmt, so daß ich insgesamt 20 ccm Staphylokokkenemulsion erhielt. Mit dieser wurden, nachdem vorher durch Passieren eines sterilen Wattefilters etwaige Nährbodenbestandteile ausgeschaltet waren, die gereinigten und sterilisierten Granaten übergossen. Das Reinigen geschah in der von Laubenheimer angegebenen Vorschrift:

Zweimaliges, je 1 Std. dauerndes Kochen in verdünnter Salzsäure und nachfolgendes Spülen mit destilliertem Wasser. Hierauf Schütteln in Alkohol und Aether und nochmals in Alkohol, Auswaschen mit destill. Wasser und Sterilisieren bei 180°.

Die so vorbehandelten Granaten werden in einer Petri-Schale mit der Staphylokokkenaufschwemmung übergossen; durch kreisförmige Bewegungen der Schale wird eine möglichst gleichmäßige Benetzung herbeigeführt. Sie rücken allmählich vom Rande der Schale her, wo sie am Anfang lagern, nach der Mitte hin zusammen und machen nun den Eindruck, als ob sie von einer dünnen, gleichmäßigen Flüssigkeitsschicht überzogen sind. Mit dem Platinspatel werden die Granaten dann so geordnet, daß jede einzelne möglichst isoliert liegt, worauf die Schale zum Trocknen der Granaten in einen mit Schwefelsäure beschickten Vakuumexsikkator gebracht wird.

Beim Aufstellen im Exsikkator ist darauf zu achten, daß die Bodenfläche eine horizontale Lage einnimmt, so daß die über den Granaten stehende Flüssigkeitsmenge an allen Stellen gleiche Höhe hat. Nur so kann man erwarten, daß alle Granaten sich ungefähr mit der gleichen Zahl von Bakterien beladen. Nach dem Trocknen, das nie länger als 18 Std. dauert, werden die sehr fest an ihrer Unterlage haftenden Granaten mit dem Platinspatel losgestoßen und in ein dunkelbraunes, mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehenes Gläschen gebracht, woraus sie bei jeweiligem Gebrauch mit steriler Pinzette entnommen werden. Als Aufenthaltsort wählte ich einen im Keller befindlichen Schrank, wie sie in einem Chlorkalziumexsikkator gleichzeitig vor Licht geschützt sind. Um ein Niederschlagen von Feuchtigkeit auf die Granaten durch die Temperaturdifferenz zu vermeiden, blieb der Exsikkator vor dem Öffnen stets 1 Std. im Laboratorium stehen,

Bei Desinfektionsversuchen war die Versuchstechnik kurz folgende:  
In die zu untersuchende Desinfektionsflüssigkeit, die sich in braunen <sup>1)</sup>,

1) Braune Gläser wurden gewählt, um einen schädigenden Einfluß des Lichtes auf die Silberlösungen möglichst zu verhindern.

sterilen, mit eingeschliffenem Glasstopfen versehenen 2 g-Fläschchen befindet, wird mit steriler Pinzette ein Granat hineingeworfen und durch mehrmaliges Hin und Herneigen des Glases werden etwa an dem Granat entstandene Luftblasen beseitigt. Nach Beendigung der Expositionsdauer wird der Granat aus dem Desinfizienz mit einer Pinzette herausgenommen und in ein 40 ccm steriles Wasser enthaltendes Pulverglas gebracht. Der Aufenthalt währt hier nur kurze Zeit, höchstens 1 Min., und hat den Zweck, die Hauptmenge der anhaftenden Desinfektionslösung zu entfernen. In einem 2. bereitstehenden Waschgefäß bleibt der Granat 5 Min., um endlich noch in einem 3. weitere 10 Min. zu verbleiben. Hiermit ist der Waschprozeß beendet.

Das Schütteln der Granaten wird in Reagenzgläsern, die 1 ccm physiol. Kochsalzlösung enthalten, vorgenommen; dabei ist darauf zu achten, daß nicht kleine Tröpfchen an den Wattepfropf gelangen, wodurch eine Menge Keime der Untersuchung entzogen werden können. Die durch das 5 Min. dauernde Schütteln entstandene keimhaltige Flüssigkeit bringe ich in eine Petri-Schale, wo sie mit flüssigem, auf 42° abgekühlten Nähragar innig vermischt wird. Nach dem Erkalten des Agars werden die Platten umgekehrt in den Brutschrank gebracht. Die größte Zahl der noch lebensfähigen Bakterien keimt bereits nach 24 Std. zu deutlich sichtbaren Kolonien aus, so daß die erste Zählung schon nach dieser Zeit vorgenommen werden kann. Eine 2. Zählung folgt nach weiterem 24-stünd. Aufenthalt der Platten im Brutschrank. Nach dieser Zeit gehen nur noch ganz vereinzelte Kolonien auf den Platten auf, die man als unerheblich vernachlässigen kann.

Platten, die nicht mehr als 1000 Kolonien enthalten, werden stets mit bloßem Auge unter Zuhilfenahme der Lupe durchgezählt, wobei ich zur Erleichterung der Zählung mir die Kolonien auf der Plattenunterseite mit Tinte markierte. Platten mit mehr als 1000 Keimen werden mit dem Leitzschen Zählokular ausgezählt, und zwar wird das Zähl-okular derart eingestellt, daß das mikroskopische Gesichtsfeld einer Fläche von 1 qmm entspricht. Nachdem an möglichst verschiedenen Stellen der Platte auf diese Weise 20 Gesichtsfelder durchgezählt sind, ergibt das Produkt aus der so erhaltenen Mittelzahl und der Plattenoberfläche in Quadratmillimeter die Zahl der auf der Platte befindlichen Keime.

Beträgt z. B. die durchschnittliche Keimzahl von 20 durchgemusterten Gesichtsfeldern 10, so ergibt sich bei einem Plattendurchmesser von 90 mm die Gesamtzahl  $10 \times 6358 = 63580$  Kolonien.

Jeder Versuch wurde durch eine Kontrolle begleitet und gestützt in der Weise, daß beim Beginn des Versuchs eine Granate in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung kommt, wo sie während der ganzen Versuchsdauer liegen bleibt. Das Abschütteln der Keime geschieht in der üblichen bereits beschriebenen Weise. In den Kontrollen benutzte ich jedoch nicht die gesamte, durch Abschütteln entstandene Staphylokokkenemulsion, sondern nur 0,1 ccm, d. h. den 10. Teil davon, so daß die Zahl der auf den Kontrollplatten aufgehenden Kolonien nur den 10. Teil der der Granate anhaftenden Keime darstellt.

Durch diese Kontrollen wurde jedesmal der Beweis erbracht, daß die verwendeten Testkeime noch voll lebensfähig waren und durch die mit dem Versuch etwa verbundenen, rein mechanischen Noxe (längerer Aufenthalt in NaCl-Lösung und das Schütteln) nicht geschädigt wurden.

Sämtliche Versuche sind bei Zimmertemperatur ausgeführt. Zur Verifizierung der Resultate wurde jeder Versuch sofort wiederholt.

### 3. Suspensionsmethode.

Während die beiden vorangehenden Methoden hauptsächlich für solche Bakterien in Frage kommen, die das Austrocknen vertragen, wird die Suspensionsmethode zur Untersuchung lebensfeuchter Bakterien benutzt. Die Widerstandsfähigkeit trockner Bakterien gegen Chemikalien ist größer als diejenige lebensfeuchter, da in die getrocknete Zelle das Desinfektionsmittel nicht ohne weiteres einzudringen vermag. Das Prinzip der Suspensionsmethode besteht darin, daß man Bakterienaufschwemmungen mit dem Desinfektionsmittel mischt. Nach dem Ablauf der Expositionsdauer trennt man die Testkeime vom Desinfektionsmittel entweder auf chemischem Wege (nach Geppert) z. B. durch Fällungsmittel oder durch Zentrifugieren (Schäffer).

Bei meinen Versuchen habe ich mich zu dem von Schäffer gemachten Vorschlag entschlossen, und zwar ist, wie ich durch Vorversuche feststellte, ein 10 Min. langes Zentrifugieren hinreichend, die in einer Flüssigkeit suspendierten Keime größtenteils zu Boden zu pressen. Die durch Zentrifugieren an den Boden des Glases gepreßten Bakterien sind zwar nicht in gleicher Weise der Einwirkung des Desinfektionsmittels ausgesetzt, wie gleichmäßig in einer Flüssigkeit suspendierte Keime, trotzdem rechne ich, wie auch Schäffer, die Expositionsdauer bis zu dem Augenblick, wo das Röhrchen von der Zentrifuge abgenommen wird. Beträgt z. B. die Dauer der Einwirkung eines Desinfektionsmittels auf Bakterien 30 Min., so wird nach Ablauf von 20 Min. mit dem Zentrifugieren begonnen. Es lassen sich daher bei dieser Versuchsanordnung nur solche Flüssigkeiten prüfen, die zur Abtötung einer bestimmten Bakterienart mehr als 10 Min. benötigen.

Sämtliche von mir benutzten Lösungen wurden, bevor ich Versuche damit anstellte, durch 20 Min. langes Zentrifugieren von korpuskulären Elementen befreit, um eine möglichst homogene Desinfektionsflüssigkeit zu erhalten. Auch wird hierdurch beim Zentrifugieren der Bakterien ein gleichzeitiges Sedimentieren und ein Mitübertragen von Desinfizienz auf den Nährboden vermieden.

Da das Argochrom sich nur in destill. Wasser völlig löst, in NaCl-haltigen Flüssigkeiten aber Niederschläge von AgCl bildet, war die Suspensionsmethode nur dann auf Argochrom anwendbar, wenn als Lösungsmittel destilliertes Wasser genommen wurde. Die Prüfung des Argochroms in NaCl-haltigen Lösungsmitteln mußte daher nach der Suspensionsmethode unterbleiben.

Die Ausführung meiner Versuche geschah in folgender Weise: Von der Desinfektionsflüssigkeit wurden 2 ccm in ein geeignetes, steriles Zentrifugenröhrchen gebracht und ein Tropfen Staphylokokkenaufschwemmung zugesetzt<sup>1)</sup>. Vor dem Ablauf der Expositionsdauer wird das Röhrchen in der oben beschriebenen Weise zentrifugiert und das Des-

1) Die durch diesen Tropfen hervorgerufene Verdünnung des Desinfektionsmittels blieb außer Betracht. Statt einer 1-proz. Lösung wurde aber in Wahrheit nur eine 0,975-proz., statt einer 2-proz. eine 1,95-proz. untersucht. Da die Methode durch die willkürliche Einrechnung des 10 Min. langen Zentrifugierens in die Beobachtungszeit an und für sich ziemlich ungenau ist, glaubte ich, diese minimale Abweichung in den Konzentrationen vernachlässigen zu können.



infektionsmittel abgegossen. Hierauf wird der Bodensatz mit 10 ccm destill. Wasser aufgeschwemmt und abermals zentrifugiert. Nach weiterem Auswaschen und nochmaligem Zentrifugieren wird der Bodensatz mit 1 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschüttelt und, mit flüssigem, auf 42° abgekühltem Agar innig vermischt, zu Platten verarbeitet. Als Kontrolle diene ein Röhrchen, das an Stelle der Desinfektionsflüssigkeit 2 ccm physiol. Kochsalzlösung enthielt und wie die anderen Röhrchen mit einem Tropfen Bakterienaufschwemmung versetzt wurde. Es wurde ebenso lange stehen gelassen wie das Versuchsröhrchen mit der längsten Versuchsdauer und am Ende des Versuches 10 Min. lang zentrifugiert.

#### 4. Bechhold und Ehrlichs Agarmethode.

Die Agarmethode nach Bechhold und Ehrlich ist die einfachste sämtlicher Prüfungsmethoden. Schrägarröhrchen werden mit einer Bakterienkultur beimpft und nach 24-stünd. Wachstum mit der zu prüfenden Flüssigkeit bis über den Rand des Nähragars gefüllt. Nach 5, 10, 15 Min. usw. wird die Desinfektionsflüssigkeit abgegossen und durch wiederholtes Waschen mit steriler physiol. Kochsalzlösung die dem Nährboden noch anhaftenden schädlichen Bestandteile entfernt. Durch dieses Auswaschen geht zwar auch ein Teil des Bakterienrasens verloren, doch bleiben stets noch reichliche Mengen zurück. Die Lebensfähigkeit der zurückgebliebenen Keime wird durch Ueberimpfen auf Nähragar geprüft. In dieser Weise habe ich meine Versuche ausgeführt.

Die Agarmethode nach Bechhold und Ehrlich entspricht eigentlich nicht mehr den Anforderungen einer modernen Prüfungsmethode; trotzdem habe ich mich bei meinen Untersuchungen der Agarmethode bedient, weil sie mir recht gut den praktischen Verhältnissen Rechnung zu tragen schien. Die Methode ahmt gewissermaßen, soweit ein Reagenzglasversuch das überhaupt kann, die Verhältnisse nach, wie sie sich bei der Desinfektion einer infizierten Schleimhaut abspielen:

Erschwerend auf den Abtötungseffekt wirkt hier, wie dort, die verhältnismäßig große Dicke der zu durchdringenden Schicht, des starken, mit Schleim- und Nährbodenbestandteilen durchsetzten Bakterienrasens, sowie die Anwesenheit von Eiweißbestandteilen, die mehr oder minder große Mengen des Desinfektionsmittels unwirksam zu binden vermögen.

Fördernd auf den Abtötungseffekt wirkt hier, wie dort, die schwere Auswaschbarkeit des einmal in die Tiefe gedrungenen Desinfektionsmittels.

So ungenau und fehlerhaft die Methode ist, wenn es gilt, die „reine Desinfektionskraft“ nach Zeit und Konzentration zu ermitteln, so wertvoll scheint sie mir für die Beurteilung der praktischen Desinfektionskraft auf Schleimhäute, die für Silberverbindungen so wichtig ist, zu sein. Vor allem ist es die einzige Methode, die gestattet, die für Silberpräparate so außerordentlich wichtige Frage der Tiefenwirkung zu prüfen.

### C. Spezieller Teil.

#### Granatenmethode.

Um einen Vergleich meiner Resultate mit denen anderer Autoren zu ermöglichen, erschien es notwendig, die Resistenz der von mir verwandten Testkeime gegen bekannte Desinfektionsmittel und gegen Er-

hitzung zu ermitteln. Als Standard-Desinfektionsmittel wählte ich 1-proz. Karbolsäure (nach dem Vorgang von Laubenheimer) sowie absoluten und 70-proz. Alkohol. Die Abtötungszeiten sind aus den Tabellen 1, 3 und 4 ersichtlich:

1.					2.				
30'	60'	70'	80'	90'	30'	60'	70'	80'	90'
5810	220	13	0	0	302	10	6	3	0
eigene Granaten					Laubenheimers Granaten				
3.					4.				
1'	5'	15'	30'	Kontrolle	1'	5'	15'	30'	Kontrolle
74110	63580	54660	27290	∞	740	0	0	0	∞
absoluter Alkohol					70-proz. Alkohol				

Zum Vergleich habe ich in Tab. 2 die Abtötungszeiten Laubenheimers mit 1-proz. Karbolsäure beigefügt.

Aus diesen Tabellen ergibt sich, daß Laubenheimers Granaten ein wenig widerstandsfähiger waren als meine; während Laubenheimers Granaten nach 90 Min. restlos abgetötet wurden, starben die meinigen schon nach 80 Min. ab. Absoluter Alkohol tötete meine Testkeime nach 30 Min. nicht restlos ab, verminderte allerdings die Zahl der lebensfähigen Keime erheblich. 70-proz. Alkohol tötete die Keime aber schon nach 5 Min. Daß 70-proz. Alkohol trockne Bakterien schneller abtötet als absoluter, ist ja seit langem bekannt. Die Ursache dieser scheinbar paradoxen Erscheinung wurde durch Frey erklärt.

Die Resistenz meiner Testkeime gegen höhere Temperaturen prüfte ich in der Weise, daß ich je eine Granate in Reagenzgläser brachte, die je 1 ccm NaCl-Lösung enthielten. Im Wasserbade wurden die Röhrchen 1, 5, 10, 15 und 30 Min. auf 60, 65 und 70° erhitzt. Nach dem Ablauf der Expositionsdauer wurden sie sofort in kaltem Wasser abgekühlt. Meine Testkeime wurden bei 60° in 30 Min., bei 65° in 15 Min. und bei 70° in 1 Min. abgetötet.

#### Granatenmethode.

Lösungen in destilliertem Wasser.

5.								
1-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granat
Argochrom 0,2 Proz. Ag	0	0	0	0	0	.	.	∞
Choleval 0,1 „ „	52 592	530	420	0	0	.	.	∞
Protargol 0,085 „ „	69 417	8 337	2	0	0	.	.	∞
Kollargol 0,8 „ „	194 337	122 678	102 411	52 143	4320	1194	380	∞

6.								
2-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granat
Argochrom 0,4 Proz. Ag	0	0	0	0	0	.	.	∞
Choleval 0,2 „ „	62 728	664	17	0	0	.	.	∞
Protargol 0,17 „ „	82 654	8 004	15	0	0	.	.	∞
Kollargol 1,6 „ „	78 738	17 943	9802	1130	670	104	91	∞

## 7.

0,1-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granate
Argochrom 0,02 Proz. Ag	124 387	104 663	60 212	7324	0	0	.	$\infty$

Tab. 5, 6, 7 zeigen die desinfizierende Wirkung der 4 Silberpräparate am reinsten. Die in destill. Wasser gelösten Desinfektionsmittel wirken hier ohne störende Beeinflussung durch Chemikalien oder Eiweißsubstanzen auf die an Granaten haftenden Keime ein.

Die Wirkung des Argochroms ist bei dieser Versuchsanordnung überragend, so daß für die 1- und 2-proz. Lösung keine untere Zeitgrenze gefunden wurde. Ich habe daher mit Argochrom allein noch einen Versuch mit 0,1-proz. Lösung angestellt.

Das Ergebnis war, daß Argochrom in 0,1-proz. Lösung die Keime in 30 Min., in 1- und 2-proz. Lösung schon nach 1 Min. abtötete. Choleval und Protargol erwiesen sich einander als gleichwertig. Abtötung durch 1- und 2-proz. Lösung in 15 Min. Trotz seines hohen Silbergehaltes erwies sich das Kollargol als fast wirkungslos. Auch nach 120 Min. erzielte die 2-proz. Lösung keine restlose Abtötung.

So interessant und wichtig die bisher gefundenen Versuchsergebnisse waren, welche die Wirkungen der Präparate unter reinen Versuchsbedingungen zeigten, so haben sie doch nur theoretisches Interesse. Sie geben nur ein Bild von dem „reinen oder theoretischen Desinfektionseffekt“.

Bei den praktischen Anwendungen wird aber die Wirkung durch die Anwesenheit anderer Substanzen gestört. Unter diesen ist das bei keinem physiologischen Prozeß fehlende Chlornatrium für die Silberpräparate das Verhängnisvollste, denn die Affinität des Silbers zum Chlor ist sehr groß, größer als selbst zum Eiweiß. Darum habe ich zunächst alle Präparate in Kochsalzlösung geprüft (Tab. 8 und 9).

## Granatenmethode.

Lösungen in physiol. Kochsalzlösung.

## 8.

1-proz. Lösungen in phys. Kochsalzlös.	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	180'	240'	360'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granat
Argochrom 0,2 Proz. Ag	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	++	++	++	++	$\infty$
Choleval 0,1 Proz. Ag	38 148	15 895	12 716	506	0	0	0	.	.	.	$\infty$
Protargol 0,085 Proz. Ag	87 105	61 137	29 882	13 352	890	0	0	.	.	.	$\infty$
Kollargol 0,8 Proz. Ag	$\infty$	$\infty$	98 312	37 142	6009	387	.	.	.	.	$\infty$

Hier sehen wir sofort ein völliges Versagen des Argochroms, hervorgerufen durch die Umwandlung des Silbernitrats in Chlorsilber. Nur wenig wird durch die Gegenwart des Chlornatriums das Choleval beeinflusst, etwas mehr das Protargol. Das Kollargol vermag in 2-proz. Lösung, selbst nach 360 Min., keine völlige Abtötung herbeizuführen.

## 9.

2-proz. Lösungen in phys. Kochsalzlös.	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	180'	240'	360'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granat
Argochrom 0,4 Proz. Ag	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	++	++	++	++	$\infty$
Choleval 0,2 Proz. Ag	44 127	31 918	1224	17	0	0	.	.	.	.	$\infty$
Protargol 0,17 Proz. Ag	89 012	25 432	7629	716	0	0	.	.	.	.	$\infty$
Kollargol 1,6 Proz. Ag	40 855	12 733	1636	1174	310	107	60	17	4	2	$\infty$

Für die Praxis am wichtigsten ist aber das Verhalten in eiweißhaltigen Medien. Die Prüfung in Serum (ich wählte dazu normales Pferdeserum) gibt ein Bild von der Brauchbarkeit der Präparate zur Blutdesinfektion bei intravenöser Darreichung (Tab. 10 und 11).

Granatenmethode.  
Lösungen in Normal-Pferdeserum.

## 10.

1-proz. Lösungen in Normal-Pferdeserum	30'	60'	120'	180'	240'	360'	Kontrolle = $\frac{1}{10}$ Granat
Argochrom 0,2 Proz. Ag	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	$\infty$
Choleval 0,1 „ „	++	++	++	+	+	0	$\infty$
Protargol 0,085 „ „	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	$\infty$
Kollargol 0,8 „ „	++	++	++	++	+	+	$\infty$

## 11.

2-proz. Lösungen in Normal-Pferdeserum	30'	60'	120'	180'	240'	360'	Kontrolle
Argochrom 0,4 Proz. Ag	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	$\infty$
Choleval 0,2 „ „	++	++	+	+	0	0	$\infty$
Protargol 0,17 „ „	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	++	$\infty$
Kollargol 1,6 „ „	++	++	++	+	+	+	$\infty$

Bei dieser Prüfung versagen alle, mit Ausnahme des Cholevals. Dieses tötet in 1-proz. Lösung nach 360 Min., in 2-proz. Lösung nach 240 Min. Die anderen Präparate führen auch nach 6 Std. keine Abtötung herbei. Eine Blutdesinfektion darf man daher von diesen Präparaten nicht erwarten, zumal da das in den Kreislauf gebrachte Silber nach Cohn sehr rasch (45 Min.) wieder ausgeschieden, bzw. in Organen deponiert wird.

Man darf aber deshalb die intravenöse Silbertherapie nicht für ganz zwecklos erklären. Die klinischen Ergebnisse widersprechen dem auch. Offenbar ist die Ursache der therapeutischen Wirkung in etwas anderem, nämlich der antiseptischen Wirkung, zu suchen. Ich komme später bei der Untersuchung der antiseptischen Wirksamkeit darauf zurück.

## Agarmethode nach Bechhold und Ehrlich.

12.

1-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'
Argochrom 0,2 Proz. Ag	++++	++	++	++	+	+	
Choleval 0,1 „ „	++	++	+	+	0	0	
Protargol 0,085 „ „	++	++	++	++	+	+	
Kollargol 0,8 „ „	++	++	++	++	++	+	

13.

2-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'
Argochrom 0,4 Proz. Ag	++	++	++	++	+	+	+
Choleval 0,2 „ „	++	++	++	+	0	0	0
Protargol 0,17 „ „	++	++	++	++	+	+	0
Kollargol 1,6 „ „	++	++	++	++	+	+	+

14.

5-proz. Lösungen in dest. Wasser	1'	5'	10'	15'	30'	60'	120'
Argochrom 1 Proz. Ag	++	+	+	+	0	0	0
Choleval 0,5 „ „	+	+	+	0	0	0	0
Protargol 0,425 „ „	++	++	+	+	+	0	0
Kollargol 4 „ „	++	++	+	+	+	+	+

Wie ich oben ausführlich darlegte, ahmt die Ehrlich und Bechhold'sche Methode am getreuesten die Verhältnisse, wie sie auf einer erkrankten Schleimhaut herrschen, nach. Die hier gefundenen Ergebnisse sind daher von großer praktischer Bedeutung. Aus Tab. 12, 13 und 14 ist ersichtlich, daß dem Argochrom in der angegebenen Konzentration keine bakterizide Wirkung zukommt, obwohl die reine Desinfektionskraft des Argochroms diejenige aller anderen Präparate weit übertrifft. Die Erklärung ist darin zu suchen, daß durch den Kochsalzgehalt des Nährbodens das Silber in unwirksames Chlorsilber verwandelt wird. Erst bei stärkerer Konzentration (siehe Tab. 14), wo neben dem als Chlorsilber ausgefallten Silber noch freies Silbernitrat in der Lösung vorhanden ist, zeigt sich Argochrom wirksam. Eine 5-proz. Lösung tötet nach 30 Min. den Staphylokokkenbelag eines Agarröhrchens ab. Einer 1-proz. Cholevallösung gelingt dies in der gleichen Zeit, während eine 2-proz. Protargollösung erst nach 120 Min. alle Keime vernichtet hat. Bei zunehmender Konzentration verschiebt sich die Wirkung dieser beiden Präparate scheinbar etwas zugunsten des Protargols. Am auffallendsten ist das Verhalten des Kollargols. Trotz seines hohen Silbergehalts gelingt es ihm nicht, selbst bei stärkerer Konzentration, die Keime zum Absterben zu bringen. Der Gehalt an Silber ist mithin kein Kriterium für die antibakterielle Wirksamkeit eines Präparates!

Die Ergebnisse der Suspensionsmethode bestätigen im allgemeinen die nach den anderen Methoden gefundenen. Die Methode verbietet,

## Suspensionsmethode.

15.					16.				
1-proz. Lösungen	30'	60'	120'	Kontrolle	2-proz. Lösungen	30'	60'	120'	Kontrolle
Argochrom	0	0	0	$\infty$	Argochrom	0	0	0	$\infty$
0,2 Proz. Ag					0,4 Proz. Ag				
Choleval					Choleval				
0,1 Proz. Ag	+	+	0	$\infty$	0,2 Proz. Ag	+	0	0	$\infty$
Protargol					Protargol				
0,085 Proz. Ag	+	+	0	$\infty$	0,17 Proz. Ag	+	+	0	$\infty$
Kollargol					Kollargol				
0,8 Proz. Ag	++	+	+	$\infty$	1,6 Proz. Ag	++	+	+	$\infty$

wegen der damit verbundenen Zentrifugierungsdauer, die Innehaltung beliebig kurzer Expositionszeiten. Ferner ist es unmöglich, mit anderen als rein wässerigen Medien zu arbeiten, denn die mit Chlornatrium entstehenden Chlorsilberniederschläge würden beim Zentrifugieren die Bakterien einhüllen. Beträchtliche Mengen antiseptisch wirkender Silberverbindungen würden daher beim Verimpfen auf Nährböden mitübertragen werden und das Aufgehen der noch lebensfähigen Keime verhindern. Daher ist die Suspensionsmethode für die vorliegenden Präparate am wenigsten geeignet.

## Zum Chemismus der Desinfektionswirkung.

Bekanntlich beruht die Desinfektionswirkung der Schwermetallsalze darauf, daß das Protoplasmaeiweiß der Bakterienzelle unlösliche, irreversible Verbindungen mit dem Metall eingeht. Auch die starke Wirkung des Argochroms in wässriger Lösung (vgl. Tab. 5, 6, 7) ist auf die Bildung von Silbereiweiß aus dem im Argochrom enthaltenen Silbernitrat zurückzuführen. Daß tatsächlich das Argochrom seinem Silbernitratgehalt die desinfizierende Wirkung verdankt, ergibt sich aus vergleichenden Untersuchungen über die bakterizide Kraft von Argochromlösungen und Lösungen von reinem Silbernitrat mit gleichem Silbergehalt. Argochrom enthält 20 Proz. Silber. Mithin entspricht eine 1-proz. Argochromlösung einer 0,31-proz. Silbernitratlösung, eine 2-proz. Argochromlösung einer 0,62-proz. Silbernitratlösung.

Wie man aus Tab. 17 und 18 ersieht, sind die Abtötungszeiten zwischen Argochromlösungen und Silbernitratlösungen von gleichem Silbernitratgehalt ungefähr gleich. Die geringen Unterschiede dürften sich aus Ungleichheiten im Silbergehalt erklären, denn der angenommene Silbergehalt des Argochroms ist ein Durchschnittswert.

Die starke Affinität des Silbers zum Chlor räumt, wie auf S. 51 näher ausgeführt wurde, den Silbersalzen eine Sonderstellung vor allen anderen desinfizierenden Schwermetallsalzen ein.

## 17.

Argochrom 1-proz. Lösungen	1'	5'	10'	15'	30'	Silbernitrat 0,31-proz. Lösungen	1'	5'	10'	15'	30'
a) in dest. Wasser	0	0	0	0	0	a) in dest. Wasser	0	0	0	0	0
b) in physiologischer Kochsalzlösung	$\infty$	$\infty$	++	++	++	b) in physiologischer Kochsalzlösung	$\infty$	$\infty$	++	++	+
c) in Normalpferde- serum	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++	c) in Normalpferde- serum	$\infty$	$\infty$	$\infty$	++	++

18.

Argochrom 2-proz. Lösungen	1'	5'	10'	15'	30'	Silbernitrat 2-proz. Lösungen	1'	5'	10'	15'	30'
a) in dest. Wasser	0	0	0	0	0	a) in dest. Wasser	0	0	0	0	0
b) in physiologischer Kochsalzlösung	∞	∞	++	++	+	b) in physiologischer Kochsalzlösung	∞	∞	++	++	++
c) in Normalpferde- serum	∞	∞	∞	++	++	c) in Normalpferde- serum	∞	∞	++	++	++

Komplexe Silberverbindungen haben nicht die Fähigkeit, in gleicher Weise mit Chlor in Reaktion zu treten. Wir sehen daher bei ihnen auch nicht die starke Benachteiligung der Desinfektionswirkung durch Chlornatrium.

Eine weitere wichtige Eigenschaft der Silberverbindungen ist ihre starke Neigung zur Kolloidalisierung. Diese Neigung ist besonders auffallend beim Argochrom. Mischt man Silbernitratlösung mit Chlornatriumlösung, so bildet sich alsbald der bekannte käsige Niederschlag von Chlorsilber. Tut man das Gleiche mit Argochromlösung, so geschieht zunächst gar nichts. Erst nach Stunden bildet sich ein Niederschlag, der jedoch an Masse viel geringer ist. Offenbar wirkt der Farbstoff als Schutzkolloid; es bildet sich kolloides Silber, das erst allmählich aufflockt. Dieser Eigenschaft, mit Chlornatrium keinen käsigen Niederschlag zu bilden, verdankt das Argochrom seine Verwendbarkeit zu intravenösen Einspritzungen. Beim Vermischen von Argochromlösungen mit Serum bildet sich ebenfalls kolloides Chlorsilber, welches durch das als Schutzkolloid hinzutretende Serumeiweiß noch mehr stabilisiert wird. Jedenfalls hat man bei der intravenösen Einverleibung von Argochrom mit dem Vorhandensein von kolloidem Chlorsilber zu rechnen.

#### Prüfung der entwicklungshemmenden Wirkung.

Die entwicklungshemmende Wirkung wird nach Laubenheimer in folgender Weise festgestellt: Dem Nährboden wird das zu prüfende Desinfektionsmittel in fallenden Mengen zugesetzt, der Nährboden mit möglichst der gleichen Anzahl Bakterien beschickt und bei konstanter Temperatur gehalten. Diejenige Konzentration, die gerade noch genügt, eine Vermehrung der in dem Nährsubstrat suspendierten Keime zu verhindern, gibt den entwicklungshemmenden Wert der betreffenden Substanz an.

Nachdem man, von einer Stammlösung ausgehend, in einer Reihe von Reagenzröhrchen Verdünnungen des Desinfektionsmittels mit destilliertem Wasser 1:100, 1:200, 1:300 usw. hergestellt hat, entnimmt man jedem dieser Röhrchen mit steriler Pipette 1 ccm Flüssigkeit und bringt diese in Röhrchen, die genau 9 ccm Nährflüssigkeit enthalten. Dadurch erhält man eine weitere Verdünnung des Desinfektionsmittels um das Zehnfache. Nachdem nun noch die Röhrchen mit je einem Tropfen einer dünnen Bakterienaufschwemmung beschickt sind, werden sie in den Brutschrank gebracht und täglich auf Wachstum geprüft. Bleibt die Nährflüssigkeit steril, so kann auf Entwicklungshemmung geschlossen werden.

Als Nährflüssigkeit wählte ich normales, steriles Pferdeserum als Testbakterien, wie bei den Abtötungsversuchen Staphylokokken. Die Ergebnisse des Versuches finden sich in Tab. 19. Die Stärke des Wachs-

tums, die nach der Trübung, in zweifelhaften Fällen nach dem mikroskopischen Befund beurteilt wurde, ist durch + angedeutet:

— = kein Wachstum, + = leichte Trübung, ++ bis ++++ = deutliches bis üppiges Wachstum.

**Entwicklungshemmung auf Blutserum.**  
(Beobachtungszeit 24<sup>h</sup>.)

	1:500	1:1000	1:5000	1:10000	1:20000	1:50000	1:75000	1:100000	1:130000	1:160000	1:1000000
Choleval	—	—	—	—	+	++++	++++	++++			
Protargol	—	—	—	—	+	++++	++++	++++			
Kollargol	—	—	—	—	—	±	+	+++			
Argochrom	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++
Kontrolle un-	—										
beimpft											
Kontrolle be-	++++										
impft											

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß Argochrom eine außerordentlich entwicklungshemmende Wirkung im Blutserum ausübt. (Es verhindert die Staphylokokkenvermehrung noch in einer Verdünnung von 1:100 000.) Hierauf, nicht auf seine recht geringe bakterizide Wirkung, dürften seine therapeutischen Erfolge zurückzuführen sein. Argochrom ist also kein Blutdesinfizienz, sondern ein Blut-antiseptikum.

Ebenso ist die therapeutische Wirkung des Kollargols aufzufassen, dessen antiseptische Wirkung zwar erheblich hinter der des Argochroms zurückbleibt, aber doch noch beträchtlich ist (1:20 000). Etwas schwächer wirkt das Protargol. Das Choleval, das für intravenöse Einspritzungen ja nicht gebraucht wird, und dessen entwicklungshemmende Wirkung im Blutserum daher ohne Interesse ist, wurde nur der Vollständigkeit halber bei diesem Versuch mitgeprüft.

**Zusammenfassung der Resultate.**

1) Bei der Prüfung der theoretischen Desinfektionskraft (d. h. in wässrigen Lösungen) ist Argochrom allen übrigen Präparaten weitaus überlegen. An zweiter Stelle folgt das Choleval; diesem steht das Protargol in seiner Wirkung nicht wesentlich nach, während das Kollargol innerhalb der angegebenen Zeitgrenze keine vollständige Abtötung bewirkt.

2) Der Silbergehalt eines Präparates ist kein Kriterium für seine antibakterielle Wirksamkeit.

3) In kochsalzhaltigen Medien tritt eine Verschlechterung der bakteriziden Wirkung der silberhaltigen Desinfektionsmittel ein. Diese steigert sich beim Argochrom fast bis zur Unwirksamkeit, während die Abtötungszeiten für Choleval und Protargol sich nur in mäßigen Grenzen verschieben. Beim Kollargol läßt sich eine nennenswerte Aenderung in seinem Verhalten Bakterien gegenüber nicht konstatieren.

4) In eiweißhaltigen Flüssigkeiten tritt eine weitere Verschlechterung sämtlicher Präparate in ihrer Wirkung ein. Am geringsten ist der



schädigende Einfluß des Lösungsmittels beim Choleval und Kollargol, während die beiden anderen Präparate hier vollkommen versagen.

5) Das Choleval ist auf Grund seines Verhaltens in der Versuchsanordnung nach Ehrlich und Bechhold als das beste von allen Präparaten für die Behandlung erkrankter Schleimhäute zu bezeichnen.

6) Das Argochrom verdankt seine bakterizide Wirkung seinem Gehalt an Silbernitrat. Die Farbstoffkomponente wirkt als Schutzkolloid. Sie verhindert die Bildung eines grobkäsigen Chlorsilberniederschlags beim Vermischen mit chlornatriumhaltigen Flüssigkeiten. Wässrige Argochromlösungen bilden beim Vermischen mit Serum keinen Niederschlag. Das Serumeiweiß wirkt so stark als Schutzkolloid, daß nur kolloides Chlorsilber entsteht. Dieser Eigenschaft ist es zu danken, daß Argochromlösungen völlig gefahrlos intravenös eingespritzt werden können.

7) Die Bakterizidie der untersuchten Präparate in eiweißhaltigen Medien (Serum) ist viel zu schwach, als daß man von ihnen eine keimtötende Wirkung in corpore erwarten könnte. Die beobachteten günstigen klinischen Ergebnisse der intravenösen Silbertherapie sind offenbar der antiseptischen (entwicklungshemmenden) Wirkung der genannten Präparate zuzuschreiben.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, dem Leiter der Serumabteilung der Firma E. Merck, Herrn Dr. Eichholz, für die Ueberlassung des Themas zu dieser Arbeit, sowie für die mir stets in liebenswürdiger Weise erteilten Ratschläge meinen besten Dank auszusprechen. Gleichzeitig danke ich der Firma E. Merck, daß sie mir die Ausarbeitung meiner Dissertation in den Räumen der Serumabteilung gestattete.

#### Literaturverzeichnis.

- Credé u. Beyer, Silber und Silbersalze als Antiseptika. 1896.  
 Thiele u. Wolf, Ueber Bakterien-schädigende Einwirkungen der Metalle. (Arch. f. Hyg. Bd. 34. S. 43.)  
 Edelmann, A., u. v. Müller-Deham, A., Zur Behandlung septischer Allgemeininfektionen mit Methylenblausilber. (Deutsch. med. Wochenschr. 1907. No. 23.)  
 Hassencamp, Untersuchungen über die kombinierte Wirkung von Metallsalzen und Farbstoffen. [Inaug.-Dissert.] Freiburg 1914.  
 Dufaux, Ueber ein neues, die Eiterkörperchen auflösendes, die Gonokokken schnell vernichtendes Mittel. (Zeitschr. f. Urol. Bd. 6. 1912.)  
 Löhlein, W., Ueber die Einwirkung gallensaurer Salze auf Gonokokken. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 46. Bd. 6. 1908.)  
 Cohn, Ueber den antiseptischen Wert des Argentum colloïdale Credé und seine Wirkung bei Infektionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 22. No. 11.)  
 Laubenheimer, K., Phenol und seine Derivate. 1909.  
 Geppert, Zur Desinfektionsfrage. (Deutsch. med. Wochenschr. 1891. S. 797.)  
 Frey, Wie wirkt absoluter und 70-proz. Alkohol? (Deutsch. med. Wochenschr. 1912. S. 1634.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die bakterizide Wirkung des Urotropins.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Utrecht (Direktor:  
Prof. Dr. G. Eijkman).]

Von Dr. Toshinobu Ohira.

Seitdem Nicolaier<sup>1)</sup> am Ende des 19. Jahrhunderts das Urotropin in die Therapie einführt, hat man angenommen, daß die bakterizide Wirkung desselben auf der Freimachung von Formaldehyd beruhe. Im Organismus tritt die Zerlegung des Urotropins gewöhnlich nur bei saurer Reaktion der Lösung ein, wobei das Urotropin in Ammoniak und Formaldehyd zersetzt wird. Nach Höst<sup>2)</sup>, Hanzlik<sup>3)</sup> und Hinemann<sup>4)</sup> ist die vom Urotropin in einer Zeiteinheit gebildete Menge des Formaldehyds abhängig von der Reaktion der Lösung (d. h. von der absoluten Menge der Wasserstoffionen), von der Konzentration des Urotropins und von der Höhe der Temperatur. Daher scheidet in der sauren Lösung das Urotropin nach einigen Minuten eine geringe Menge von Formaldehyd bei Körperwärme aus, und im Harn konnte man schon 10 bis 15 Min. nach der Verabreichung von Urotropin eine kleine Quantität von Formaldehyd nachweisen. Es ist darum wahrscheinlich, daß dieses, vom Urotropin abgespaltene Formaldehyd, wenn es auch sehr wenig ist, eine gewisse bakterizide Wirkung entwickelt. Dagegen gab es Anhaltspunkte, wonach man annehmen konnte, daß das Urotropin als solches keine wesentliche antiseptische Wirkung habe [Hanzlik<sup>5)</sup>, Jordan<sup>6)</sup>, Höst]. Um dieses besonders nachzuweisen, hat Hanzlik Kulturversuche gemacht, wobei er mit dem ammoniakalischen Agar, welchem das Urotropin bis zu 10 Proz. beigefügt wurde, einige Stämme von *Bact. typhi*, *coli*, *dysent. etc.* kultivierte. Jedoch ließ sich daraus auf eine bakterizide Fähigkeit des Urotropins nicht schließen, wohl aber wurde die Entwicklung der Mikroorganismen zuweilen bei Körpertemperatur in den urotropinhaltigen Harnen beeinträchtigt, die mit den feineren chemischen Proben keine Formaldehydreaktion ergaben, auch wenn sie etwas ammoniakalisch gegärt hatten. Daraus mußte man also schließen, daß das Urotropin an sich eine gewisse hemmende Wirkung gegen Bakterieninfektion habe.

Nach Groß<sup>7)</sup> und Nicolaier sollte diese Wachstumshemmung der Bakterien auf der Wirkung des locker gebundenen Formaldehyds beruhen, was doch durch chemische Proben nicht nachgewiesen werden konnte. Doch ist es fraglich, ob das so geringfügige, locker gebundene Formaldehyd, welches keine chemische Reaktion hervorruft, in gewissem Grade bakterizide Wirkung entwickelt. Außerdem kann im ammoniakalisch gegärten Harn das Formaldehyd in diesem Zustande nicht bestehen wegen des Vorhandenseins überschüssigen freien Ammoniaks. Andererseits wird auf Grund einiger Anhaltspunkte dieses so zu erklären gesucht, daß das Urotropin doch selbst eine gewisse bakterizide Wirkung entfalten könne. Gewiß verläßt der größte Teil des eingenommenen Urotropins unzersetzt den Organismus, und nur ein sehr geringer Bruchteil davon wurde durch die Azidität des Mediums und die Körperwärme in Formaldehyd und Ammoniak zersetzt. Der qualitative Nachweis spricht nur für das Vorhandensein, aber nicht für die Wirkung. Also bei den üblichen Methoden des Formaldehydnachweises (und zwar Jorissensche Phlorogluzinmethode und Schryers Phenylhydrazinprobe) kann man bis zu  $\frac{1}{1000000}$  feststellen. Daß eine so geringe Menge Formaldehyd die Mikroorganismen im Körper unschädlich macht oder abschwächt, muß als höchst problematisch bezeichnet werden, und man möchte annehmen, daß irgendwelche antiseptische Wirkung dem Urotropin selbst zuzuschreiben ist (Deutsch<sup>8)</sup>). Zum Beweise wurden einige kulturelle Versuche angestellt, worin die Abspaltung von Formaldehyd in der Kulturflüssigkeit unter allen Umständen (nach

1) Nicolaier, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 38. 1899.

2) Höst, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 81. 1915.

3) Hanzlik, Cleveland med. Journ. 1914. No. 12.

4) Hinemann, Journ. of the Americ. med. Assoc. 1913.

5) Hanzlik, Journ. of the Americ. med. Assoc. Vol. 54. 1910.

6) Jordan, Biochem. Journ. Vol. 5. 1910.

7) Groß, Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 22.

8) Deutsch, Wien. klin. Wochenschr. 1919. No. 45.

seiner Angabe) vermieden wurde, und das Wachstum der Kultur im Gelatineschrank (zur Verhinderung höherer Erwärmung) beobachtet wurde. Die normale Bouillon, die Urotropin in verschiedener Konzentration (2,0—0,2 Proz.) enthielt, wurde mit je einer  $\frac{1}{10}$  Oese von 24-stünd. Kulturen (*Bact. coli comm.*, Staphylokokken, Streptokokken und *Proteus vulg.*) beimpft. Nach 20—24-stünd. Verweilen im Gelatineschrank wurde die Stärke des Wachstums nach Keimzahl-schätzung bestimmt. Er konnte durch diese Experimente bei *Proteus vulg.* und Staphylokokken eine bedeutende Hemmung des Wachstums, und sogar beim *Proteus* bei 2,0—0,6-proz. Konzentration von Urotropin kein Wachstum konstatieren. Auf Grund dieses Versuches behauptete er, daß das Urotropin selbst in dieser bestimmten Konzentration die Keimentwicklung von *Proteus vulg.* und Staphylokokken ohne Abtötung derselben hindere und dann gewissermaßen den Boden für die Wirkung des frei werdenden Formaldehyds vorbereite. Dadurch sei es erklärlich, wie so geringe, experimentell unwirksame Formaldehydmengen, wie sie in nicht sauren Medien allein durch die Körperwärme nach Einnahme von Urotropin entstehen, eine desinfizierende Wirkung entfalten könnten.

Bekanntlich sind Staphylokokken und *Proteus ammoniakalisch* harn-gärende Bakterien, welche vom Harnstoff Ammoniak abspalten. Die Angabe Deutchs ist insofern richtig, als im urotropinhaltigen, ammoniakalisch gegärten Urin, der mit den chemischen Nachweisproben keine Formaldehydreaktion gibt, das Wachstum von Bakterien gehemmt wird. Jedoch scheint es fraglich, ob Urotropin in normaler, neutraler Bouillon unzersetzt bleiben kann, auch in niedriger Brutschranktemperatur. Nach Höst kann man gewöhnlich kleine Mengen Formaldehyd nachweisen, wenn man eine wässrige Urotropinlösung bei Zimmertemperatur stehen läßt. Daraus konnte irgendeine fehlerhafte Folgerung entstehen, und man konnte die Abspaltung von Formaldehyd in der Kulturflüssigkeit nur dann absolut vermeiden, wenn das Urotropin in einem alkalischen Nährboden aufgelöst und nicht einer so hohen Temperatur ausgesetzt wurde. Ueberdies scheint Deutchs Angabe an mehreren Stellen noch lückenhaft und nachprüfenswert zu sein.

Ich habe, um dieses darzulegen, als Kulturflüssigkeit eine alkalisierte Bouillon benutzt, deren Reaktion bis zu 0,5 Proz.  $n/4$  Natronlauge vom neutralen Punkt mit Phenolphthalein als Indikator alkalisiert. Diese alkalisierte Bouillon hat sich zur Kultur mehrerer Arten von Bakterien (z. B. *Bact. coli comm.*, *Bact. typhi*, *Staphylococcus pyog.* und *Proteus vulg.*) gut bewährt und man konnte in normaler und alkalisierter Bouillon keinen merklichen Unterschied im Wachstum wahrnehmen. Das Urotropin wurde in dieser alkalisierten Bouillon bis zu einer Konzentration von 2,5 Proz. aufgelöst. Um die Bakterienkeime in dem Urotropinpräparat selbst zu sterilisieren, wurde das Urotropin vorher mit reinem, absolutem Aether gewaschen, worauf alle Restchen von Aether bei Zimmertemperatur abgedampft wurden. Natürlich enthielt das für die Experimente benutzte Urotropinpräparat keine Spur von freiem Formaldehyd und war chemisch ganz rein. Es wurde bei 20—25° C Brutschranktemperatur in der alkalisierten Bouillon gar nicht zersetzt, und auch mit den feineren chemischen Formaldehydnachweisproben konnte ich nach 3-wöchigem Verweilen im Gelatineschranke keine Formaldehydreaktion in der Bouillon nachweisen.

Die Bouillonröhrchen, die je 10 ccm alkalisierte Bouillon enthielten, wurden mit dem Urotropin in verschiedener Konzentration versetzt und dann mit je einer  $\frac{1}{1000}$  Oese der 24-stünd. Bakterienkulturen beimpft. (Anfangs wurden sie, wie bei Deutsch, mit je  $\frac{1}{10}$  Oese der Bakterienkultur beimpft, aber wegen des zu massenhaften Keimwachstums konnte man keinen Unterschied bei den Röhrchen bemerken.) Die Stärke der Wachstumshemmung versuchte ich nach 20-stünd. Verweilen im Brutschrank bei 21° C mittels Keimschätzung zu bestimmen. Ich mußte aber immer auf das 1000-fache mit der sterilen physiol. Kochsalzlösung verdünnen und davon 1—0,5 ccm aussäen, um einzelne Kolonien zählbar zu bekommen (stets mindestens 2 oder 3 Aussaten, und zwar in verschiedenen Mengen). Nach dem Verweilen im Brutschrank bei 21° C

wurde die Nachweisprobe von Formaldehyd an jedem Röhrchen mehrfach wiederholt, und die Abwesenheit einer Spur desselben in allen bestätigt.

Versuch I. Kulturversuch von *Bact. coli comm.* und *Bact. typhi* mit der urotropinhaltigen Bouillon. Die Kulturverfahren wurden genau in oben beschriebener Weise ausgeführt, und genauigkeitshalber wurde derselbe Versuch mit Urotropin wenigstens einige Male wiederholt. Die durchschnittlichen Zahlen, welche die Keimzahlen in 1 ccm der mit physiol. Kochsalzlösung auf das 1000-fache verdünnten Kulturbouillon bezeichnen, sind in der Tabelle angegeben:

Urotropin-konzentration	<i>Bact. coli comm.</i> (Stamm V)	<i>Bact. coli comm.</i> (Stamm U)	<i>Bact. coli comm.</i> (Stamm A)	<i>Bact. typhi</i>
2,5-proz.	95	207	76	55
1,0 "	193	391	174	72
0,5 "	275	406	245	85
0,25 "	331	424	332	94
Kontrolle (kein Urotropin)	480	553	370	113

Aus diesem Versuche ist ersichtlich, daß die Wachstumshemmung der Bakterien, wenn auch nicht stark, mit der Konzentration des Urotropins allmählich zunimmt.

Versuch II. Kulturversuch von Staphylokokken und *Proteus vulg.* mit der urotropinhaltigen Bouillon, genau wie beim Versuch I. Die durchschnittlichen Keimzahlen zeigt folgende Tabelle:

Urotropin-konzentration	<i>Staph. pyog. aur.</i>	<i>Staph. pyog. alb.</i>	<i>Proteus vulg.</i> (Indol posit. st.)	<i>Proteus vulg.</i> (Indol posit. st.)
2,5-proz.	57	69	183	234
1,0 "	79	107	361	352
0,5 "	101	128	501	549
0,25 "	119	142	653	644
Kontrolle	123	155	872	1033

Aus diesen Versuchen erhellt, daß das Wachstum von *Proteus* und Staphylokokken durch das Urotropin etwas gehemmt wird, aber nicht stärker als bei *Bact. coli* und *typhi*. Freilich ist die Wachstumshemmung in der Urotropinbouillon ungefähr ebenso stark bei *Bact. coli comm.* und *typhi* wie bei *Staph.* und *Proteus vulg.* Ein besonderer Unterschied ist in der Wachstumshemmung nicht zu bemerken. Dennoch ist eine so starke Salzkonzentration in den Kulturmedien (2 Proz. oder noch höher) nicht unschädlich für das Bakterienwachstum. Eine Veränderung des Salzgehaltes im Milieu hemmt die Lebenstätigkeit der Bakterien und führt bei ihren Zellen, wie bei anderen Pflanzenzellen, zur Plasmolyse (Fischer)<sup>1)</sup>. Um das genauer festzustellen, wurden Kulturversuche mit Bakterien in einer alkalisierten Bouillon ausgeführt, worin anstatt des Urotropins chemisch reines Kochsalz bis zu 2,5-proz. Konzentration aufgelöst war.

Versuch III. Kulturversuche in kochsalzhaltiger Bouillon. Alle Umstände waren dieselben wie in den Versuchen I und II. Die durchschnittlichen Keimzahlen zeigt folgende Tabelle:

1) Fischer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900.

NaCl-Konzentration	Bact. colicomm. (Stamm V)	Bact. colicomm. (Stamm U)	Bact. colicomm. (Stamm A)	Bact. typhi
2,5-proz.	66	169	97	29
1,0 "	131	298	113	41
0,5 "	175	542	389	67
0,25 "	294	726	542	76
Kontrolle	416	831	673	128

NaCl-Konzentration	Staph. pyog. aur.	Staph. pyog. alb.	Proteus vulg. (Indol posit. st.)	Proteus vulg. (Indol negat. st.)
2,5-proz.	53	48	198	267
1,0 "	92	97	386	524
0,5 "	128	108	602	732
0,25 "	153	123	706	951
Kontrolle	210	189	788	1825

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich, wird auch durch eine stärkere Konzentration eines Salzes, welches bei mäßiger Konzentration für das Wachstum der Bakterien gar nicht hemmend, sondern befördernd ist, das Wachstum gleich stark gehemmt. Aus diesem Grunde kann das Urotropin selbst nicht als ein spezifisch desinfizierendes Mittel für einige Bakterien angesehen werden. Im ammoniakalisch gegärten Harn scheint das Urotropin selbst eine gewisse hemmende Wirkung auf das Bakterienwachstum zu entfalten. Natürlich ist zwischen Harn und Bouillon als Nährmedium für Bakterien ein großer Unterschied, da Harn als Nährmaterial für Bakterien minderwertig ist. Aus den Bakterien-Kulturversuchen mit Urotropinbouillon darf man nicht schließen, daß das Wachstum der Bakterien im Harn durch das Urotropin, ohne Freiwerden von Formaldehyd in annähernd gleicher Weise beeinflußt wird. Die Kulturversuche mußten daher besonders mit ammoniakalisch gegärtem Harn angestellt werden, welchem das Urotropin in verschiedenen Mengen zugesetzt wurde. Zu diesem Zwecke wurden 50 ccm Harn von einem gesunden Individuum, dessen Reaktion natürlich schwach sauer war, in einem Erlenmeyer-Kölbchen abgemessen und 2mal je  $\frac{1}{2}$  Std. lang im Dampfe fraktioniert sterilisiert. Mit  $\frac{1}{10}$  Oese den Bakterien, welche den Harn ammoniakalisch vergärten, z. B. mit *Proteus vulg.*, wurde dieser sterilisierte Urin beimpft. Derselbe zeigte immer infolge der Bakterieninfektion nach 24-stünd. Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C stark ammoniakalische Gärung. Wegen zu starker Alkalität mußte der vergärte Urin immer mit der gleichen Menge sterilisierten Harns von demselben Ursprung verdünnt werden. Die Alkalität desselben wurde mittels n/10 Schwefelsäure mit Phenolphthalein als Indikator festgestellt. Das Urotropin wurde in dem mit Ammoniak übersättigten Harn nach 20 Std. langem Verweilen im Brutschrank bei 37° C gar nicht zersetzt; mehrfach wiederholte Versuche ergaben negative Befunde von freiem Formaldehyd. Je 10 ccm ammoniakalisch gegärten, aber verdünnten Harns wurde in 5 sterile Röhrchen gegossen, deren jedem die bezüglichen Quantitäten der Urotropinstammlösung zugefügt wurden, wobei natürlich vorher aus dem Inhalte jedes Röhrchens die gleiche Menge Bouillon mit der hinzugefügten Urotropinstammlösung genommen werden mußte. Letztere wurde direkt vor jedem Versuche mit demselben kalten, verdünnten, ammoniakalisch gegärten Harn frisch hergestellt. Die Röhr-

chen wurden dann im Wasserbad bei konstant 37° C bis zur Nähe des Halses getaucht. Nach 1 und 3 Std. wurde das Bakterienwachstum durch Keimschätzung festgestellt wie im Versuahe I und II.

Versuch IV. 1) Mit *Proteus vulg.* (indolpositiver Stamm). Die Alkalität des dazu benutzten ammoniakalisch infizierten Harns betrug 5,5 Proz. normaler Natronlauge und sein Keimgehalt: 72 (bei einer Keimstärke in 1 ccm des auf das 1000-fache mit steriler physiol. Kochsalzlösung verdünnten Harns):

Urotropin-Konzentration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden
0,5-proz.	115	143
0,2 "	124	135
0,05 "	112	139
0,02 "	132	148
Kontrolle (kein Urotropin)	108	132

2) Mit *Proteus vulg.* (indol-negative Stämme). Die Alkalität des Mediums betrug 4,6 Proz. normale Na-Lauge. Keimzahlenstärke: 43:

Urotropin-Konzentration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden
0,5-proz.	97	139
0,2 "	112	128
0,05 "	106	142
0,02 "	81	114
Kontrolle	118	135

Das Urotropin wurde bei diesen Kulturversuchen in niedrigerer Konzentration als in den früheren Versuchen hinzugefügt, weil man gewöhnlich im Harn eine so große Menge Urotropin nicht ausscheiden kann. Versuch IV hat bestätigt, daß das Urotropin auch im ammoniakalisch gegärten Harn keine besondere Wachstumshemmung der Bakterien hervorruft. Die Wachstumsstärke ist im Urinkontrollröhrchen ziemlich gleich.

Den Versuch mit dem *Staphylococcus* mußte ich unterlassen, weil die ammoniakalische Harn gärung mit den mir eingehändigten Stämmen ganz ungenügend dazu war.

Zum Vergleiche mit den obigen Experimenten zur genaueren Bestätigung des Erfolges wurden noch folgende Versuche ausgeführt:

Versuch V: Der sterilisierte schwach saure Harn eines gesunden Individuums wurde als Kulturmedium für die Bakterien benutzt. Mit 1 Oese einer 24-stündigen Bakterienkultur wurden 100 ccm sterilisierten Harns beimpft und gut gemischt, um die Bakterien in der Flüssigkeit gleichmäßig zu emulsieren. Daraus wurden je 10 ccm Harn in 5 sterile Röhrchen gegossen und jedesmal das Urotropin jedem Röhrchen frisch zugefügt. Im übrigen waren alle Methoden dieselben wie beim Vers. IV.

1) Kulturversuch mit *Proteus vulg.* (indol-positivem Stamme). Azidität des Harnes betrug 11 Proz. N<sub>10</sub>-Säure. Keimzahl: 87:

Urotropin-Konzentration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden
0,5-proz.	24	19
0,2 "	39	28
0,02 "	58	86
0,02 "	80	157
Kontrolle	93	327

2) Kulturversuch mit *Proteus vulg.* (indol-negativem Stamme). Azidität des Harns betrug 16 Proz. N/10-Säure. Keimzahl: 92:

Urotropin-Konzentration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden
0,5-proz.	59	47
0,2 "	52	79
0,05 "	79	332
0,02 "	110	764
Kontrolle	154	1859

Spuren von freiem Formaldehyd konnten schon nach 1 Stunde in allen urotropinhaltigen Röhrchen ziemlich deutlich nachgewiesen werden. Im allgemeinen wurde das Wachstum der Bakterien darin stark gehemmt, aber die Hemmung in den 0,05 und 0,02-proz. Lösungen war nicht sehr deutlich, denn nach 3 Stunden wuchsen die Bakterien in den Lösungen noch weiter, was vielleicht dadurch verursacht ist, daß das freie Formaldehyd in den Lösungen teilweise wieder im Urotropin durch überschüssiges Ammoniak gebunden wird, welches wegen des lebhaften Wachstums der Bakterien vom Harnstoff im Urin abgespaltet wurde, und auch dadurch, daß eine genügende bakterizide Wirkung des freien Formaldehydes darin nicht stattgefunden hat. Dagegen war das Wachstum der Bakterien in den Kontrollröhrchen sehr üppig. Bei dem Versuche mit dem ammoniakalischen Harn war das Wachstum der Bakterien in dem Kontrollröhrchen sehr schwach; die Keimzahlen vermehrten sich nur ganz wenig, waren auch bedeutend geringer. Selbstverständlich wird das schwache Wachstum durch das Kulturmedium selbst, und zwar durch die Alkalität der Kulturflüssigkeit, verursacht. Und es ist erklärlich, daß das Wachstum der Bakterien im ammoniakalisch gegärten Urin gewissermaßen gehemmt wird, ohne die Wirkung des freien Formaldehydes.

Aus den ausgeführten 5 Versuchen können folgende Schlüsse gezogen werden:

- 1) Das Urotropin selbst hat keine besondere bakterizide oder wachstumshemmende Wirkung für Bakterien.
- 2) Bei der ammoniakalischen Harngärung wird das Wachstum der Bakterien durch die Alkalität des Mediums geschädigt.
- 3) Keine der Angaben Deutschs könnte ich bestätigen.

*Nachdruck verboten.*

## Beobachtungen bei Dysenterie.

[Aus dem Staatlichen Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken (Direktor: Prof. Dr. Hilgermann).]

Von **Rudolf Strempel**, Assistent des Instituts.

Schon vor dem Kriege waren die Meinungen über Einteilung und Benennung der Ruhrerreger geteilt.

Einigkeit herrschte bei den Autoren nur in der Beschreibung der Erreger der schweren oder echten Ruhr, der Shiga-Kruse-Bazillen als streng abgeschlossener,

gleichförmiger Gruppe. Was die Erreger der falschen Ruhr resp. Pseudodysenteriebazillen betrifft, so legt Lentz, welcher sie als die giftarmen Dysenteriebazillen bezeichnet, das Hauptgewicht bei ihrer Gruppierung auf ihr biologisches Verhalten gegenüber kohlehydrathaltigen Lackmus-Nährböden. Von den 3 Arten der giftarmen Bazillen, dem Typus Flexner, Y (Hiss-Russel) und Strong rötten alle Lackmussmannitagar, Flexner noch Maltose, Strong außerdem Saccharose. Kruse und seine Schule hingegen haben diese, von Kruse „Pseudodysenteriebazillen“ genannten Bakterien auf Grund ihrer serologischen Unterschiede eingeteilt. Mit Hilfe ihres Verhaltens bei der Agglutination und Absättigung in agglutinierenden Seren hat Kruse verschiedene Rassen aufgestellt, die er mit den Buchstaben A—H bezeichnet. Die wichtigsten, d. h. die am häufigsten gefundenen, nennt er Hauptrassen, so Rasse Pseudodysenterie A: 1. Hauptrasse, Pseudodys. D: 2. Hauptrasse. Den Bazillus Y reiht er in die Klasse A und D ein, Bazillus Flexner fällt unter die verschiedensten Rassen; die Gattung Strong gehört in die Gattung F—H. Eine Sonderstellung nimmt die Rasse E ein; sie säuert Malz- und Milhzucker und bringt Milch nach 8—14 Tagen zur Gerinnung. 1917 hat Kruse noch eine neue Rasse „Pseudodysenterie I“ aufgestellt. Neben den Pseudodysenteriebazillen unterscheidet Kruse noch Paradysenteriebazillen als Mutation der Dysenteriebazillen, von denen sie sich dadurch unterscheiden, daß sie Traubenzucker vergären.

Sonne wiederum nennt die gesamte Gruppe der Pseudodysenteriebazillen Paradysenteriebazillen und teilt sie, auf Grund einer besonderen Versuchsanordnung, in verschiedene Gruppen ein. In der Hauptsache unterscheidet er Gruppe I, II und III. Zu I und II gehören alle früher schon genannten Typen Y, Flexner und Strong. Die Gruppe III ist von Sonne neu aufgestellt. Sie weicht in agglutinatorischer Hinsicht von I und II erheblich ab. Sie wird von spezifischen Pseudodysenterieimmunsereen nicht agglutiniert. Seiner Meinung nach muß sie jedoch zu den giftarmen Erregern gerechnet werden, da sie das gleiche Krankheitsbild hervorruft und für die Pseudodysenteriebazillen charakteristische morphologische und kulturelle Eigenschaften besitzt. Weiterhin beschreibt er die Gruppen IV, V und VI, zu denen keiner der bekannten Ruhrerreger gehört. Da sich bei ihnen vieles findet, was an inagglutinable Ruhrbazillen erinnert, glaubt er, auch sie dazu rechnen zu können.

Nachdem nun der Krieg in solcher Fülle Ruhrerkrankungen im Gefolge gehabt hat, hat sich die Aufmerksamkeit der Bakteriologen mit erneutem Interesse der Erforschung dieser Seuche zugewandt. Die Frage: Ist eine zusammenfassende bakteriologische Diagnose der Ruhr im Anfangsstadium der Erkrankung möglich, ist nicht leicht zu beantworten. Betrachtet man die neuere Literatur, so findet man sehr widersprechende Angaben. Es werden Erreger beschrieben, die in ihrem biologischen Verhalten zwar den bekannten Dysenterieerregern entsprechen, in ihrem serologischen Verhalten von ihnen abweichen, und umgekehrt Stämme, die durch spezielle Immunsere zwar hoch agglutiniert werden, kulturell jedoch sich wieder anders verhalten. Von anderen Autoren wurden in Ruhrstühlen lediglich Organismen gefunden, die in ihren Eigenschaften sehr von den bekannten Erregern abweichen. Da sie jedoch der einzige Befund in den Dejekten waren, wurden sie ätiologisch verantwortlich gemacht.

Bei anderen Untersuchern, z. B. Seligmann, griff infolge des völligen Versagens der bakteriologischen Untersuchung der Gedanke Platz, die hämorrhagische Colitis sei durch äußere Umstände, wie Witterungseinflüsse, einseitige Ernährung des Krieges und dadurch bedingte toxische Störungen hervorgerufen. Wieder andere suchten, infolge der schlechten Untersuchungsergebnisse, die Schuld auf Paratyphusbazillen, Streptokokken oder pathogen gewordene Coli-Bazillen zu schieben. In vielen anderen Fällen wurde auf die bakteriologische Hilfe völlig verzichtet und die Diagnose lediglich aus dem klinischen Befund gestellt. So vertraten Kolle und Dorendorf 1916 die Meinung, für die galizische Ruhr sei keiner der bekannten Erreger verantwortlich zu machen. Von anderer Seite wurde nach neuen Erregern gefahndet und auch verschiedentlich beschrieben, z. B. die sogenannten Kapselbazillen von Czaplowski und der von Schmitz beschriebene Organismus, den er bei einer Epidemie in einem Gefangenenlager isolierte. Alle diese Ansichten hatten ihre Ursache in den mangelhaften bakteriologischen Untersuchungsergebnissen in klinisch sicheren Ruhrfällen bei gehäuftem Auftreten der Krankheit. Die Mitteilung über positive Bazillenbefunde in Ruhrstühlen sind sehr verschieden. Breinl fand 1916 nur in 14,86 Proz. der Fälle die Erreger, Brünauer bei 849 klinisch als Ruhr diagnostizierten Fällen nur in 6,4 Proz. Seligmann gelang es in vielen Hunderten von Ruhrfällen, im ganzen nur 15mal, Dysenteriebazillen zu isolieren, und zwar 10mal Shiga-Kruse und 5mal Y. Bei anderen Epidemien hatte er besseren Erfolg. In 38 Proz. aller Untersuchungen bekam er positive Resultate. Verteilt man die Befunde auf die einzelnen Krankheitswochen, so bekam er in der 1. Woche 30 Proz., in der 2. Woche 53 Proz., in der 3. Woche 18 Proz., in der 4. Woche 0 Proz. Das Alter der Fälle ist demnach von großer Bedeutung für den



Erfolg. Dafür sprechen auch die Beobachtungen von Jacob. Dieser Autor berichtet von verschiedenen Ergebnissen, je nachdem der Stuhl im Anfang der Erkrankung oder später zur Untersuchung kam. Im 1. Falle bekam er in fast 50 Proz. positive Resultate, im 2. bloß in 11 Proz. Friedemann und Steinbock berichten von 335 Stuhluntersuchungen wegen Ruhrverdachts, die nur 29mal positiven Befund ergaben. Gegenbauer fand 1916 auf dem östlichen Kriegsschauplatz unter 274 Fällen in 16,4 Proz., 1917 unter 215 Fällen in 29,3 Fällen, 1918 unter 1076 Fällen in 16,1 Proz. die Erreger. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß er nicht nur blutig-schleimige, sondern auch schleimige und breiige Stühle heranzog. Friedrich hingegen gelang bei 101 klinisch festgestellten Fällen 61mal, also in 60,4 Proz., der Nachweis.

1918 hatte das Hygienische Institut Saarbrücken anläßlich einer Epidemie reichlich Gelegenheit zur bakteriologischen Stuhluntersuchung. Im Juli setzte im Stadtteil Rußhütte explosionsartig unter der Zivilbevölkerung eine Ruhrepidemie von 168 Erkrankungen ein. Die Infektionsquelle für das plötzliche Auftreten der Ruhrerkrankungen war in der Mitte Juni stattgehabten Einquartierung eines Truppenteils zu suchen, der in Saarbrücken wegen Ruhrverdachts seine Fahrt unterbrechen mußte und in Rußhütte einquartiert wurde. Von dem verseuchten Truppenteil mußten auch bald nach Ankunft 106 teils leicht, teils schwer an Ruhr Erkrankte dem Lazarett überwiesen werden. In den Stühlen dieser 106 Erkrankten wurde in 13,2 Proz. der Erreger isoliert. In allen Fällen handelte es sich um den giftigen Typ Shiga-Kruse. Da die Mannschaften in Zivilquartieren untergebracht waren, war ein inniger Verkehr mit der Zivilbevölkerung gegeben. Infolgedessen war es nicht zu verwundern, daß die Krankheit auch da bald um sich griff. Bei mehreren 100 Stuhluntersuchungen — außer den 168 in Rußhütte gemeldeten, traten in den Monaten Juli bis Oktober durch Verschleppung der Seuche in die verschiedenen Stadtteile weitere 550 andere Fälle auf — wurden in 10 Proz. Ruhrkeime gefunden. Die Technik der Stuhlverarbeitung war folgende:

Von dem eingesandten Untersuchungsmaterial wurden typische nekrotische Schleimfetzen nach mehrmaligem gründlichen Abspülen in physiologischer Kochsalzlösung auf Drigalski-Platten verstrichen. Von verdächtigen Kolonien wurde mit Mischimmenserum die orientierende Agglutination vorgenommen. Bei positivem serologischen Befund wurde, falls die Kolonie genügend Material bot, gleichzeitig sofort auf Traubenzucker und Lackmusmolke übergeimpft und eine Schrägagarkultur angelegt. Sprach neben richtigem morphologischen Befund die fehlende Traubenzuckervergärung, zarte Rötung der Lackmusmolke für Dysenterie, so wurde zur endgültigen Identifizierung die spezifische Agglutination mit hochwertigen Immuneris nach Pfeiffer und Kolle angestellt. Bei positiver Agglutination in höheren Verdünnungen wurden die Organismen als Ruhrerreger angesprochen. Zur Trennung der verschiedenen Typen wurde die Prüfung mit Kohlehydratnährböden (Mannit, Maltose, Saccharose) ausgeführt. Ergab die biologische Prüfung keine eindeutigen Resultate, so wurde das Gelatineplattenverfahren zur Erhaltung der Reinkultur herangezogen. Insgesamt wurden in 10—13,2 Proz. die Erreger nachgewiesen.

Durch welche Ursachen mögen die Mißerfolge resp. wechselnden Ergebnisse der bakteriologischen Ruhrdiagnostik bedingt sein? Meistens wird die Empfindlichkeit der Ruhrbazillen dafür verantwortlich gemacht, und in erster Linie soll die Kälteempfindlichkeit schuld daran sein. Es wird behauptet, die Bazillen vertragen die Abkühlung, der sie beim Transport ausgesetzt sind, sehr schlecht. Es wurde deshalb von ver-

schiedener Seite der Versand des Materials in Thermosflaschen empfohlen.

So gibt Handmann eine besondere Technik für die Stuhlentnahme und den Versand in Thermosflaschen an, um so die Erreger möglichst vor Abkühlung zu schützen. Ebenso verspricht sich Stark bessere Erfolge von der Verbringung der Stuhlproben sofort nach Entleerung in Thermosflaschen. In zweiter Linie soll das Ueberwuchern der Begleitbakterien, besonders des *Bacterium coli*, die mangelhaften Resultate zeitigen. Was den ersten Punkt anbetrifft, so steht er stark in Widerspruch mit der Ansicht anderer Autoren. Lentz sagt: Niedrige Temperaturen verzögern das Absterben der Dysenterieerreger, und der Winterkälte widerstehen sie sehr lange. Gruber und Schädel haben den Erreger aus Stühlen gezüchtet, die mit der Post weit herkamen und auf dem Transport strenger Kälte ausgesetzt waren. Sie vermögen daher der Abkühlung der Stühle nicht die Schuld an dem Mißlingen des Bazillennachweises zuzuschreiben.

Breinl hat in dieser Hinsicht Versuche angestellt. Er brachte durch Darmspülung gewonnenes typisches Material Ruhrkranker nach sorgfältiger Abspülung in physiol. Kochsalzlösung teils in den Thermostaten, teils in den Eisschrank. Auf den bei tiefer Temperatur gehaltenen Platten ließen sich die Bazillen längere Zeit und auch in größerer Anzahl nachweisen als in den Proben, die in den Thermostaten verbracht waren. Schon nach 6—12 Std., selten erst nach 24, waren in letzteren keine Erreger mehr nachweisbar. In der Wärme scheint demnach ein Ueberwuchern durch Begleitbakterien, insbesondere *Coli*-Bakterien, begünstigt zu werden, während bei tiefer Temperatur ein Bakterienwachstum nicht stattfindet und damit das ursprüngliche Mengenverhältnis gewahrt bleibt. Ebenso empfiehlt Schweriner auf Grund seiner Beobachtungen, die Stühle zur Untersuchung in Eis verpackt einzuschicken. In der Wärme werden die Ruhrbazillen schnell von den Begleitbakterien überwuchert; durch die Kältewirkung wird diese Ueberwucherung erheblich gehemmt.

Abgesehen von diesen Faktoren spielt natürlich die Technik der Gewinnung und Verarbeitung des Untersuchungsmaterials eine wesentliche Rolle bei der bakteriologischen Stuhluntersuchung. In den Fällen, in denen solche Mißerfolge gezeitigt wurden, war der abgesetzte Stuhl in der üblichen Weise verpackt und an die betreffenden Untersuchungsämter eingeschickt und dort erst verarbeitet worden. Seitdem man diese Methode dahin abgeändert hat, daß die zu verarbeitenden Proben direkt am Krankenbett event. durch Darmspülung entnommen, und die Schleimflocken nach sorgfältiger Auswaschung in physiol. Kochsalzlösung sofort auf die geeigneten Platten verstrichen wurden, sind bedeutend bessere Resultate erzielt worden.

Breinl gelang es in dieser Weise, von 70 Erkrankten 67mal, also in 95 Proz., Dysenteriebazillen zu züchten. Auch Friedemann bekam sofort bessere Ergebnisse, als er nach dieser Methode arbeitete.

Trotz alledem gibt es genügend Fälle klinisch feststehender Ruhr, bei denen die bakteriologische Untersuchung ein völlig negatives Resultat ergab, obwohl der Stuhl unmittelbar am Krankenbett aufgefangen und 10 Min. später im Laboratorium verarbeitet wurde. Wir müssen einmal schädigende Momente in bakteriziden Einflüssen des Blutes annehmen, da die Stühle Ruhrkranker oft stark mit Blut vermischt sind. Wenn nun, wie es in solchen Stühlen der Fall ist, die darin eingeschlossenen Bakterien den bakteriziden Einwirkungen des Blutes längere Zeit ausgesetzt sind, kann die Lebensfähigkeit der Ruhrbazillen so geschädigt werden, daß sie kein Wachstum mehr zeigen. Daraus erklärt sich auch, daß gerade blutige Stühle negativen bakteriologischen Befund ergeben. In zweiter Linie spielt die Reaktion der Stuhlproben eine große Rolle für die Wachstumsmöglichkeiten der Ruhrbazillen. In umfassenden Versuchen am hiesigen Institut konnte Kleinsorgen nachweisen, daß sauer reagierende Stühle fast durchweg negative Ruhrbazillenbefunde ergaben. Auffangen der Stühle in alkali-

schen Medien wird geeignet sein, einmal die bakteriziden Kräfte des Blutes zu verdünnen und andererseits saure Reaktionen der Stuhlproben auszuschalten. Jakob hatte 10 Proz. mehr bakteriologische Erfolge, wenn er Stühle in Kochsalzlösung brachte, als wenn er sie in der üblichen Weise in sterilen Gefäßen verschickte.

Daß bei sorgfältiger Technik nicht nur in frischen Fällen mit typisch schleimigen Ruhrstühlen, sondern auch in späteren Stadien der Erkrankung resp. Rekonvaleszenz bei bereits festen Stühlen die Erreger sich züchten lassen, beweisen im Hygienischen Institut in Saarbrücken gemachte Beobachtungen. Bei der oben angeführten Ruhrepidemie handelte es sich darum, aus einem geschlossenen Mannschaftskomplex Leichtkranke und Verdächtige als Bazillenträger auszuschalten. Wie erwähnt, waren 106 Erkrankte ins Lazarett übergeführt worden. Nach deren Abgang lag der Gedanke nahe, daß sich unter den zurückgebliebenen Gesunden, im ganzen 418 Mann, noch Bazillenträger befinden könnten. Von diesen Leuten wurden an 5 aufeinanderfolgenden Tagen Stuhlproben auf Ruhrbazillen untersucht, und zwar in nachstehender Weise: Die Leute mußten sämtlich an Ort und Stelle ihren Stuhl der Reihe nach auf besondere Pappteller ablegen. Hieraus wurden sofort verdächtige Schleimflocken herausgesucht, sorgfältig gewaschen, auf Drigalski-Platten verstrichen und diese sofort ins Institut überführt. Unter den 418 Gesunden konnten 11 Bazillenträger herausgefunden werden, und zwar 5 Shiga-Kruse-Bazillenträger, 1 Y- und 5 Flexner-Bazillenträger. Daß mit dieser Untersuchungsmethode alle Träger festgestellt wurden, zeigt die Tatsache, daß bei einer 8 Tage später auf die gleiche Weise vorgenommenen Nachuntersuchung sich keine Bazillen mehr nachweisen ließen, und auch keine neue Erkrankung mehr unter den Mannschaften vorkam.

Die Unzulänglichkeit der bakteriologischen Stuhluntersuchung gab bald Veranlassung, sich einer Methode zur Ruhrdiagnostik zu bedienen, die bessere Aussichten auf Erfolg bot. Man zog die Widalsche Reaktion heran.

Ueber die Brauchbarkeit dieser Reaktion für die Dysenteriediagnostik gehen die Ansichten auseinander. Lentz und Kruse sehen in ihr ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel, wenn ihr auch nicht die Bedeutung des Typhuswidals zugesprochen werden kann. Nach Lentz ist für Shiga-Kruse-Ruhr beweisend eine Agglutination in der Serumverdünnung 1:50, für die giftarmen Typen in der Verdünnung 1:100. Allerdings verlangt er, daß die positive Reaktion makroskopisch, also mit bloßem Auge, zu erkennen sei. Er warnt vor mikroskopischer Beurteilung. Kruse hält für den echten Ruhrerreger eine Verklebung in der Verdünnung 1:50 für brauchbar. Der Agglutination für Pseudodysenteriebazillen spricht er nur bedingten Wert zu. Die Beobachtungen des Krieges haben das Zutrauen zu dieser Untersuchungsmethode sehr ins Wanken gebracht, so daß von mancher Seite ihr jede Bedeutung abgesprochen wird. Kutscher z. B. sah nach Schutzimpfung gegen Typhus und Cholera Nebenagglutinine für Shiga-Kruse auftreten. Infolgedessen wird von ihm die Spezifität der Agglutination angezweifelt. Andere Autoren sprechen sich für teilweise Verwertbarkeit aus. So warnt Sternberg vor alleiniger Verwendung der Agglutinationsprobe für die Ruhrdiagnose. Nach seinen Erfahrungen werden auch Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe öfters durch Pseudodysenterieimmunsere in hohen Verdünnungen agglutiniert. Er hält daher die Agglutination nur in Verbindung mit dem kulturellen Nachweis für brauchbar. Seligmann verwertet zwar die Shiga-Kruse-Agglutination als spezifisch, verwirft jedoch die Y-Flexner-Agglutination, da sie, wenn auch nur in mäßiger Höhe, bei Leuten auftritt, die niemals an Ruhr erkrankt waren. Soldin erwähnt bei Y-Dysenterie Mitagglutination für Typhus, doch hat er an der Hand von Fällen festgestellt, daß die Agglutination für Typhus nur im Anfang der Y-Ruhrerkrankung vorhanden war, sich jedoch im späteren Verlauf der Krankheit abschwächte bzw. sich verlor. Die Agglutination für den Y-Bazillus zeigte das umgekehrte Verhalten. Im Anfang war der Widal negativ, trat gegen Ende der 1. Woche regelmäßig ein, steigerte

sich im Verlauf der Krankheit, um sich später wieder abzuschwächen. Friedemann und Steinbock haben umfassende Untersuchungen über Ruhragglutination angestellt. Sie kamen zu der Ansicht, daß der Widal für die Diagnose Shiga-Kruse-Ruhr verwertbar sei, und zwar verwerten sie nur grobkümpige Zusammenballung der Bakterien. Sie erkannten so bei einer Epidemie in 77,3 Proz. die Erkrankung als Shiga-Kruse-Dysenterie, während die bakteriologische Untersuchung nur 14,3 Proz. Ausbeute ergab. Ebenso spricht sich Dünner nur für die grobkümpige Verklebung aus. Eine feinkümpige wird abgelehnt. Eine Agglutination in Verdünnung 1:50 kann seiner Meinung nach für Shiga-Kruse als spezifisch betrachtet werden; Ergebnisse, wie sie von Schiemann bestätigt werden konnten. Jacobitz dagegen hält auch grobkümpige Agglutination für Shiga-Kruse in Verdünnung 1:50 und für Y, Flexner in Verdünnung 1:100 für nicht beweisend, da er sie auch bei andersartig Erkrankten fand. Keck wiederum verlangt bloß für die Pseudoerreger eine grobkümpige Agglutination, allerdings in Verdünnung von mindestens 1:200; für Shiga-Kruse genüge eine feinkümpige, mit der Lupe sichtbare Flockung in Verdünnung 1:100. Köhler und Veiel, die bei 58 Ruhrkranken 55mal, in 94 Proz., positive Resultate bekamen, hatten dabei als unterste Grenze eine grobkümpige Verklebung in Verdünnung 1:40 für Shiga-Kruse und 1:80 für die giftarme Gruppe gewählt. Schmidt berücksichtigt auf Grund seiner Erfahrung für Shiga-Kruse Agglutinationswerte in Verdünnung 1:50 nur nach kurzer Beobachtungsdauer von 2—3 Std. oder in Verdünnung 1:100 bei etwa 20-stünd. Beobachtungsdauer.

Für die Pseudodysenterieerreger kommen nach ihm erst Werte von 1:200 an in Betracht. Eine weitere Frage bei der Heranziehung der Widalschen Reaktion zur Ruhrdiagnose ist die: Ist die Agglutinationsprobe analog der Reaktion bei Typhus zur Frühdiagnose zu verwenden? Wir wissen, daß die Ruhr nur ein kurzes Inkubationsstadium hat. Wir können daher im Beginn der Erkrankung kaum einen positiven Widal erwarten, da in dieser Zeit der Körper noch nicht genügend nachweisbare Abwehrstoffe gebildet haben wird. Für die Frühdiagnose scheint daher der Widal nicht in Betracht zu kommen. Mit dieser Anschauung decken sich die Angaben in der Literatur.

Kruse und Lentz beobachteten das Auftreten von Ruhragglutininen gegen Ende der 1. Krankheitswoche. Friedrichs und Köhlers Beobachtungen stimmen mit diesen Mitteilungen überein. Auch sie geben das Erscheinen der Agglutinine im Blut durchschnittlich für den 7. Tag an. Doch sah Friedrich auch schon am 4.—5. Tag positive Widalsche Reaktion. Nach anderen Autoren Gross, Jakob, tritt positive Agglutination bei Ruhr meist erst in der 2.—3. Woche auf. Ebenso sahen Seligmann und Sternberg im allgemeinen nicht vor dem 20.—21. Tage positiven Agglutinationsbefund.

Bei den im hiesigen Institut untersuchten Seren ließ sich das Auftreten der Agglutinine im Blut fast durchweg vom 7. Krankheitstage an feststellen. Doch konnten verschiedentlich auch schon eher, vom 4.—5. Tage ab, positive Resultate erzielt werden.

Von größter Wichtigkeit für einen brauchbaren Ausfall der Agglutinationsprobe ist die sorgfältige Auswahl der Verwendung findenden Stämme. Die für uns in Betracht kommenden, durch Gelatineplatten erhaltenen Kulturen müssen durch spezifische Immunsere grobflockig agglutinierbar sein. Es sind nur Stämme zu verwenden, die sich nicht zu schwer zusammenballen lassen. Vielfach ist allerdings die Inagglutinabilität mancher Stämme bloß eine vorübergehende Erscheinung. Durch geeignete Vorbehandlung läßt sich die Agglutinationsfähigkeit solcher Stämme erheblich steigern, wie nachstehende Versuche mit 3 inagglutinablen Flexner-Stämmen zeigen.

3 morphologisch und kulturell einwandfreie Stämme vom Typus Flexner wurden auf Aszites-schrägagar und gewöhnlichen Schrägagar übergeimpft und nach 24-stünd. Bebrütung bei 37° mit hochwertigem Flexner-Immunserum vom Titer 1:10000 agglutiniert. Die Agglutination wurde nach Pfeiffer-Kolle im Reagenzglase angestellt. Das

Ergebnis wurde nach 2 usw. bis 18 Std. Brutschrankaufenthalt abgelesen.

Vor Anstellung der Agglutination wurde von jedem Röhrchen weiter übergeimpft und nach 24-stünd. Brutschrankaufenthalt damit erneut agglutiniert. Nach 1. Ueberimpfung verhält sich Stamm I noch völlig inagglutinabel. Bei St. II und III ist schwache Agglutination in Verdünnung 1:300 sichtbar. Bereits nach der 2. Ueberimpfung ist bei St. II und III eine bedeutende Verbesserung der Verklebungsfähigkeit (1:800) festzustellen. Nach der 3. Ueberimpfung zeigt St. I von beiden Nährböden Agglutination in Verdünnung 1:50. Die beiden anderen Stämme ergeben beide bis zur Verdünnung 1:1000 ein positives Resultat. St. II bedeutend stärker von Aszitesagar als von Nähragar. Nach der 4. Ueberimpfung wird St. I auf Aszitesagar bis zur Verdünnung 1:100 schwach verklebt. St. III zeigt bis 1:800 starke Agglutination, in Verdünnung 1:2000 gerade noch sichtbare Flockung. Die nächsten Ueberimpfungen nimmt St. I im Agglutinationsvermögen stetig zu. Nach 12. Ueberimpfung 1:2000, nach 15. Ueberimpfung höchste Agglutination 1:8000. Ebenso wächst die agglutinatorische Empfindlichkeit der beiden übrigen Stämme. Nach 19. Ueberimpfung wird St. III ebenfalls in Verdünnung 1:8000 agglutiniert. Der Agglutinationstiter für St. II geht jedoch nicht über 1:4000.

Durch geeignete Behandlung der Stämme — fortgesetztes Ueberimpfen, zumal auf eiweißreichen Nährböden, — ließ sich also die Agglutinationsfähigkeit der 3 Stämme ganz erheblich steigern. Am deutlichsten ist die Aenderung bei St. I zu merken, der sich anfangs völlig inagglutinabel verhielt. Doch auch die beiden anderen Stämme ließen deutlich eine wachsende Empfindlichkeit gegenüber den spezifischen Agglutininen erkennen.

Andererseits dürfen die zur Verwendung kommenden Stämme gegenüber Normalagglutininen keine Empfindlichkeit zeigen, um unspezifische Verklebung zu vermeiden. Die Tatsache, daß manche Ruhrstämme, vor allem die der Pseudogruppe, mit Seren andersartig Erkrankter vielfach positive Agglutination ergeben, ist lange bekannt. Dies konnte auch durch eigene Versuche festgestellt werden. Zur Agglutination wurden 5 bei einer früheren Epidemie als Y-Bazillen identifizierte Stämme herangezogen. Vor Anstellung der Versuche wurden sie auf ihre Eigenschaften geprüft und ihre Zugehörigkeit zur Dysenteriegruppe erwiesen. Interessant war das Verhalten der Stämme auf den verschiedenen Zuckernährböden. Von den 5 Y-Stämmen verhielten sich jetzt bloß noch 4 wie Y, d. h. sie röteten nur Mannit, ließen Maltose und Saccharose blau. Der 5. säuerte auch Maltose. Nach einer Reihe von Ueberimpfungen änderte noch ein weiterer Y-Stamm sein Verhalten, indem er ebenfalls Maltose rötete. Gleichwie bei diesen Stämmen, wurde auch bei anderen beobachtet, daß eine sichere Differenzierung mittels ihres Verhaltens gegenüber Kohlehydraten nicht immer gelingt. Eine Trennung der Erreger durch die Agglutination ließ sich nicht durchführen. Mit hochwertigen Flexner- und Y-Immunseren zeigten die Y-Stämme grobe Verklebung bis über Titergrenze. Dabei war die Agglutination mit Flexner-Serum durchschnittlich stärker als mit dem homologen Y-Serum, auch bei den Stämmen, die Maltose unverändert ließen. Erst mit Hilfe des Castellani'schen Versuches gelang es, die einzelnen Stämme zu scheiden. Diese Stämme

wurden auf ihre Agglutinabilität mit einer Reihe Sera geprüft, die zur Anstellung des Typhus-Widal und der Wassermannschen Reaktion dem Institut eingesandt waren. Im ganzen wurden etwa 75 Sera der Prüfung unterzogen. Von diesen verhielten sich agglutinatorisch einwandfrei negativ 32 Sera. Alle übrigen ergaben mit einem oder mehreren der 5 Stämme zweifelhafte, schwach positive oder positive Reaktion in Verdünnung 1:50, 1:100 und 3mal zweifelhaften Ausfall in Verdünnung 1:200.

Zur Agglutination wurden 24-stünd. Agarkulturen der benannten Stämme mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, und gleiche Mengen der Abschwemmung mit je 1 ccm Serumverdünnung 1:50, 1:100, 1:200 versetzt. Die Ablesung erfolgte durchschnittlich nach 4—8 Std. Brutschrankaufenthalt. Vielfach wurden die Röhrchen nach weiterem Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur nochmals geprüft. Nennenswerte Resultatsänderungen ergaben sich daraus nicht.

Es zeigte sich, daß Sera andersartig Erkrankter öfters Agglutinationskraft für die giftarmen Ruhrbazillen besitzen. Doch ließ sich der Unterschied der Agglutination im spezifischen Immuns Serum und den Versuchsseren leicht erkennen. Die spezifischen Sera zeigten immer mit bloßem Auge sichtbare Verklebung, im Gegensatz zu den Versuchsseren, deren Agglutination nur mit Lupe oder mit Agglutinoskop zu sehen war. Mit den homologen Immunsere n flockten die Stämme außerdem sehr häufig in groben Klumpen aus, mit den Versuchsseren nie. Obige Versuche sprechen daher auch für die Anschauung, daß für Pseudoruhrbazillen makroskopisch sichtbare Agglutination in Verdünnung 1:100 als spezifisch betrachtet werden kann, hingegen die feineren, nur mit Lupe oder Agglutinoskop sichtbaren in der Verdünnung 1:100 nicht verwertbar sind.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß vor Benutzung von Ruhrstämmen zur Agglutination eine sorgfältige Prüfung mit Normalseren notwendig ist, um einwandfreie Werte zu erhalten. Am besten bewährt sich wohl die Anwendung einer Mischbouillon, wie sie Hilgermann<sup>1)</sup> für die Widal'sche Reaktion bei Typhus und Paratyphus angegeben hat. Das gleiche Prinzip, eine Mischung verschiedener Stämme zu nehmen, die zwar leicht agglutinabel sind, jedoch gegenüber Normalagglutininen keine Spontanagglutination zeigen dürfen, hat sich auch für den Ruhrwid al als brauchbar erwiesen. Von etwa 6 vorher genau geprüften (24 Std. bei 37° gewachsenen), von Reinkulturen abgeimpften Stämmen, wird je eine Oese Kultur vorsichtig an der Wand eines Kölbchens mit 100 ccm oder mehr steriler Bouillon sorgfältig verrieben. Peinlichst steriles Arbeiten ist Bedingung. Die Bouillon wird 2—3 Tage, je nach der erreichten Dichte, bei 37° bebrütet, zur Abtötung der Bazillen mit 1 Proz. Formalin versetzt und behufs Absetzung gröberer Partikelchen in einen hohen sterilen Meßzylinder übertragen. Nach 48-stünd. Stehen der Mischung in dem Meßzylinder wird die Flüssigkeit vom Bodensatz abgossen und auf Sterilität durch Ausstrich auf Nährbodenplatten geprüft. Erweisen sich die Platten nach 24-stünd. Beobachtung bei 37° als keimfrei, so kann die Mischbouillon benutzt werden. Vor ihrer Benutzung ist sie jedoch mit einem sicheren entsprechenden spezifischen Ruhrimmuns Serum in Verdünnung 1:100, 1:1000 und physiol. Kochsalz-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 68. 1913; Deutsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 49.

lösung als Kontrolle zu prüfen. Die Reaktion wird nach Pfeiffer-Kolle im Reagenzglas angesetzt.

Wollen wir bei der Ausführung der Widalschen Reaktion wirklich gute Ausschläge erhalten, so müssen wir höhere Bakterienkonzentrationen benutzen, die stark trübe sind und infolgedessen bei positivem Ausfall des Widals einen stark flockigen Niederschlag geben. Diese Vorteile bietet uns die Dichte einer Mischbouillon. Ferner werden durch das Wachstum der Bakterien in der Bouillon und die durch die Formalinierung erfolgte Abtötung auch die Sekretionsprodukte der Bakterien für den Agglutinationsvorgang nutzbar gemacht.

Man kann auch Agarkulturenabschwemmungen — in Kolleschen Schalen angelegt — verwenden. Ist das Maximum des Wachstums bei 37° Bebrütung erreicht, werden die Kulturrasen mit wenig Kochsalzlösung mittels eines dünnen Glasstabes abgeschwemmt. Man erhält so eine gleichmäßig dicke Emulsion, die dann in einen Erlenmeyer-Kolben mit steriler physiol. Kochsalzlösung so weit verdünnt wird, bis der erfahrungsgemäß günstigste Grad der Dichte erreicht ist. Diese richtig verdünnte Emulsion wird mit 1 Proz. Formalin versetzt und nach gutem Durchmischen durch 48 Std. bei 37° unter gleichzeitigem Absetzenlassen grober Partikelchen im Meßzylinder abgetötet. Prüfung auf Sterilität usw. wie vor. Bei dieser Herstellungsform bedarf jedoch die Feststellung der günstigsten Dichte großer Übung.

H. Bitter<sup>1)</sup> hat in Cairo seine gesamten Ruhruntersuchungen mit solchen formalinisierten Mischaufschwemmungen ausgeführt und sie als unbegrenzt haltbar bezeichnet. Diese Mischaufschwemmungen und Mischbouillons stellen mithin ein haltbares und jederzeit brauchbares Ruhrdiagnostikum dar.

Welche Werte dürfen wir nun als positiv ansehen? Nach den im hiesigen Institut gesammelten Erfahrungen darf eine Agglutination in Verdünnungen 1:50 für Shiga-Kruse und 1:100 für Pseudoruhrbazillen bei makroskopischer Betrachtung als spezifisch angesprochen werden. Anlässlich der Epidemie im Jahre 1918 wurden dem Hygienischen Institut Saarbrücken weit über 1000 Blutproben zur Anstellung des Ruhrwidal übersandt. Von diesen waren bei obiger Technik 47,6 Proz. positiv. Da das Material nicht nur von klinisch sicheren Fällen stammte, sondern zum großen Teil von verdächtig Erkrankten, ist dieser Prozentsatz als hoch zu bezeichnen, und würde er sich bei Ausschaltung aller verdächtigen Fälle noch wesentlich höher gestalten. Auch aus Rücksprache mit den das Material einsendenden Aerzten ergab sich, daß in klinisch sicheren Ruhrfällen in den ersten Erkrankungstagen der Widal nicht so häufig negativ war, als bisher angenommen wurde. Beweisend für die sicheren Ergebnisse der Agglutinationsreaktion war weiterhin die Beobachtung, daß die ad exitum gekommenen Ruhrfälle agglutinatorisch positiv gewesen waren. Wir werden mithin der Widalschen Reaktion zur Diagnostik der Ruhr nicht ihre Bedeutung absprechen können; sie wird vielmehr bei richtiger Auswahl der zur Verwendung gelangenden Stämme, ihrer polyvalenten Vereinigung, ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel sein.

Bei der epidemiologischen Betrachtung der Ruhr nimmt in erster Linie der ruhrkranke Mensch unser Interesse in Anspruch. Mit

1) Persönliche Mitteilungen.

den blutig-schleimigen Entleerungen werden die Erreger in ungeheuren Mengen ausgeschieden und bilden eine ständige Gefahr für die Umgebung. Nicht weniger gefährlich als die an ausgesprochener Ruhr Erkrankten sind die Individuen, deren Ruhr unter dem Bilde eines einfachen, leichten Darmkatarrhs verläuft. Da derartige Kranke leicht dem Auge des Arztes entgehen, selbst auch keine Vorsichtsmaßregeln beobachten, ergibt sich ohne weiteres, welche Gefahr gerade sie für ihre Mitmenschen darstellen. In dritter Linie ist an gesunde Bazillenträger und sogenannte Dauerausscheider zu denken. Unter Umständen werden von früher an Ruhr Erkrankten wochen-, monate- ja jahrelang noch Erreger abgesetzt. Bemerkenswert dabei ist, daß die Ausscheidung von freien Intervallen unterbrochen ist.

So beschreibt Boehncke eine Epidemie, bei der die Seuche mit größter Wahrscheinlichkeit durch einen noch 9 Mon. nach Genesung ausscheidenden Soldaten ausgelöst wurde. Ebenso fand er bei einer Epidemie 25 gesunde Bazillenträger. Von O. Mayer werden Angaben über Dauerausscheider gemacht, bei denen sich noch wochenlang nach Genesung Bazillen nachweisen ließen. Er konnte ebenfalls eine Anzahl gesunder Bazillenträger feststellen. Küster teilt einen Fall mit, wo ein Soldat 3 Jahre nach Erkrankung bei einem Rückfall wieder Shiga-Kruse-Bazillen im Stuhl hatte.

Wie schon oben erwähnt, gelang es auch bei der Epidemie in Rußhüte, unter 418 Mannschaften ohne Krankheitserscheinungen 11 Bazillenträger ausfindig zu machen. Das sind die Fälle, bei denen man immer auf die Unterstützung der Bakteriologen angewiesen ist, da ja bei Versagen der klinischen Diagnose die Aetiologie nur durch die bakteriologische oder serologische Beglaubigung geklärt werden kann.

Als ein weiterer wichtiger Faktor bei der Uebertragung der Ruhr ist die Stubenfliege zu betrachten. Die Schnellverbreitung der Seuche in der heißen Jahreszeit hat sicher eine ihrer Hauptursachen in der Uebertragungsmöglichkeit durch Fliegen, die sich auf die frischen Entleerungen der Kranken setzen und die Keime in die Wohnungen der Umgebung verschleppen.

Hilgermann konnte während des Krieges im Seuchenlazarett Warschau in den mit Ruhrkranken belegten Baracken bei 40 Proz. der in diesen Baracken gefangenen Fliegen im Magendarmkanal und auch an den Füßen Bazillen vom Typus Shiga-Kruse und Y nachweisen.

Bei der Bekämpfung der Ruhr ist daher neben den üblichen prophylaktischen Maßnahmen von wesentlicher Bedeutung eine energische Ausrottung der Fliegen. Auf Grund seiner Erfahrungen über die Verbreitungswege der Ruhr auf dem östlichen Kriegsschauplatze hat Winter<sup>1)</sup> auf die Bedeutung der Stubenfliege als Ruhrüberträger eingehend hingewiesen. Zum obersten Grundsatz einer erfolgreichen Ruhrbekämpfung erhebt er die Vernichtung der Fliegen und ihrer Brut.

Zur Unterstützung der Dysenteriebekämpfung ist weiterhin an prophylaktische Immunisierung zu denken. Von der passiven Immunisierung, der Behandlung mit polyvalentem Ruhrserum wird schon lange Gebrauch gemacht. Im allgemeinen wird sie auch in günstigem Sinne beurteilt. Kruse und Lentz sehen in der Serumprophylaxe und -Therapie ein ausgezeichnetes Hilfsmittel. Boehncke hat gute Ergebnisse mit der Serumbehandlung erzielt. Allerdings mußte zur Auslösung einer guten Wirkung eine genügend große Menge frühzeitig verabreicht werden. Jakob hingegen hat in 90 Ruhrfällen mit polyvalentem Ruhrserum keinen Einfluß auf den Verlauf der Krankheit ausüben können. Durch den Krieg mit seiner großen Zahl von Ruhrerkrankungen wurde

1) Bisher nicht veröffentlicht, private Mitteilung.



bald die Frage der aktiven Immunisierung in den Brennpunkt des Interesses gerückt, da ja aus naheliegenden Gründen — Kostspieligkeit, kurze Dauer des Schutzzustandes, Belästigung durch zu große Mengen — an eine Serumanwendung im großen Maßstabe nicht zu denken war. Bis 1916 verhielt man sich gegenüber der aktiven Immunisierung analog der Typhus- und Choleraschutzimpfung ablehnend, was Kruse auf dem Warschauer Kongreß für innere Medizin noch zum Ausdruck gebracht hat. Spätere Erfahrungen haben jedoch auf einen gangbaren Weg in der Bakteriotherapie der Ruhr verwiesen. Versuche mit polyvalenter Stammvakzine von Pseudoruhrbazillen zeigten die Unschädlichkeit dieser Vakzineanwendung. Die Schwierigkeit lag in der Bekämpfung der echten Dysenterie durch die Schutzimpfung. Es war schon lange bekannt, daß die Einverleibung abgetöteter, giftiger Ruhrbazillen schwere Erscheinungen hervorruft. Mit der Kombination der passiven mit der aktiven Immunisierung wurde ein Weg gefunden, der nicht nur beschreitbar war, sondern auch Aussicht auf Erfolg versprach.

Von Boehncke wurde ein toxisch-antitoxischer Ruhrbazillenimpfstoff hergestellt, dem, entsprechend der Menge der Dysenteriebazillen, zur Paralyse der toxischen Wirkung der Bazillen Ruhrserum zugesetzt wurde. Eine Reihe Autoren hat die Unschädlichkeit dieses Impfstoffes bei richtiger Technik der Anwendung festgestellt und gute Resultate gesehen. Boyé z. B. hält die prophylaktische und Umgebungsschutzimpfung mit diesem Impfstoff für empfehlenswert. Er hat 2- und 3-zeitig geimpft, der 3-zeitigen Impfung gibt er den Vorzug. Ebenso sprechen Steuernagel und Bürgens dem Boehnkischen Impfstoff hohe prophylaktische Schutzwirkung zu, ohne nachteilige Folgen zu hinterlassen. Andere Autoren, wie Dittborn-Löwenthal, haben sich bemüht, bei der Herstellung eines multivalenten Ruhrimpfstoffs das Unschädlichmachen der giftigen Gruppe nicht durch Kombination der aktiven und passiven Immunisierung, sondern auf physikalisch-chemischem Wege zu erreichen, ohne daß dabei der Antigencharakter der Bazillen verloren geht. Nach ihren eigenen Erfahrungen und den Erfahrungen von Schultz kann dieser Impfstoff ohne Gefahr zu Immunisierungszwecken verwendet werden.

Dem hiesigen Institut war anlässlich der Rußhütter Epidemie selbst Gelegenheit zur prophylaktischen Schutzimpfung gegeben. Die Impfungen beschränkten sich lediglich auf den von ungefähr 1200 Menschen bewohnten Stadtteil Rußhütte, wo, abgesehen vom Militär, 168 erkrankte Zivilpersonen zur Anzeige kamen. Da eine gesetzliche Handhabe zur zwangsweisen prophylaktischen Impfung nicht gegeben war, wurde das Publikum durch die Zeitungen zu 2mal wöchentlich festgesetzten Impfterminen eingeladen. Zur Impfung wurde der Ruhrheilstoff Boehncke (Rüte-Enoch, Hamburg) verwendet. Im ganzen kamen 360 Personen zur Impfung. Es wurde 2-zeitig in Abständen von 7 Tagen geimpft. Erwachsenen wurde das 1. Mal 1 ccm, das 2. Mal 2 ccm Impfstoff injiziert, Kindern, je nach Alter und körperlichem Zustand, das 1. Mal 0,5—0,75, das 2. Mal 1—1,5 ccm. Schädliche Nebenwirkungen wurden, wenn man von den gewöhnlichen Impfreaktionen, wie Druckschmerz und leichter Schwellung an der Einstichstelle, geringen Kopfschmerzen, absieht, in keinem Falle beobachtet. Wenn auch die Anmeldungen zu den Impfungen hinter den gehegten Erwartungen zurückblieben, läßt sich immerhin aus dem Material ein gewisser Rückschluß auf die Wirkung der vorbeugenden Impfung ziehen, obwohl die Schutzimpfung erst im August vorgenommen wurde, zu einer Zeit, wo bekanntlich die Ruhr stets ihren Höhepunkt erreicht hat. Für eine strenge kritische Beurteilung der Ergebnisse wäre die Impfung im Beginn der Epidemie wünschenswerter gewesen. Aus äußeren Gründen jedoch

konnte an die Durchführung der Impfung nicht eher herangegangen werden.

Auf die gesamte Einwohnerzahl berechnet, ergibt sich: Geimpft wurden von ungefähr 1200 Bewohnern des Stadtteils 360, so daß etwa 900 Ungeimpfte übrig blieben. Von letzteren sind, als Grenzzeitpunkt den Beginn der Impfung genommen, nachträglich noch 44, gleich 4,88 Proz., von den Geimpften nur 4 gleich 1,2 Proz. erkrankt, so daß ein schützender Einfluß der Impfung doch zu erkennen ist. In vielen Häusern, in denen vor der Impfung häufig Ruhrfälle vorgekommen sind, sind keine Geimpften mehr erkrankt. Für einen weiteren günstigen Erfolg der Schutzimpfung spricht ferner der Umstand, daß von einer geschlossenen prophylaktisch-geimpften Arbeitergruppe einer im versuchten Stadtteil gelegenen Fabrik nachträglich niemand erkrankte. Demnach wird man zu dem Schluß berechtigt sein, daß von der Anwendung des Impfstoffs zur Bekämpfung von Ruhrepidemien günstige Resultate zu erwarten sind, zumal die üblichen Maßnahmen — wie Anzeigepflicht und strenge Absonderung der Kranken — erfahrungsgemäß bei größeren Epidemien nicht genügen, und besonders bei frühzeitigem Ansetzen der Impfung dürften weit günstigere Ergebnisse zu erwarten sein.

#### Zusammenfassung.

Eine Ursache für den geringen Prozentsatz des Ruhrbazillennachweises ist in der Bakterizidie der blutigen Stühle und der sauren Reaktion derselben zu suchen.

Daß außer den bekannten Bazillen auch andere Organismen ein ruhrähnliches Bild hervorrufen können, ist anzunehmen, ohne daß es sich dabei immer um neue spezifische Erreger zu handeln braucht. Vielmehr werden auch Bakterien der Begleit- und Ueberwucherungsflora unter Umständen auf der geschädigten Darmschleimhaut gedeihen und pathogene Wirkungen hervorrufen können, ohne daß wir sie sofort als neue Typen zu bezeichnen brauchen. Durch die vielen verantwortlich gemachten Erreger ist die Verwirrung auf dem Gebiet der Ruhr nur vergrößert und der Wert der bakteriologischen Diagnose in den Augen der Praktiker herabgesetzt worden.

Die unspezifischen Verklebungen von Ruhrbazillen und das Vorkommen schwer agglutinabler Stämme machen eine sorgfältige Auslese der Kulturen für die Agglutinationsprobe erforderlich. Bei richtiger Technik und Beurteilung ist die Widalsche Reaktion für die Ruhrdiagnose sehr brauchbar. In atypisch verlaufenden Dysenteriefällen ist sie neben der bakteriologischen Untersuchung zur Klärung der Ätiologie das einzige Mittel. Eine Verklebung in Verdünnung 1:50 für Shiga-Kruse und 1:100 für die Pseudogruppe bei makroskopischer Betrachtung ist als spezifisch anzusehen. Nur mit Lupe oder Agglutinoskop sichtbare Flockungen sind diagnostisch nicht verwertbar.

In der Vereinigung einer größeren Anzahl sorgfältig ausgewählter Stämme in Form der sogenannten Mischbouillons resp. Mischaufschwemmungen besitzen wir ein zuverlässiges, haltbares Ruhrdiagnostikum.

Zur Bekämpfung der Ruhr — namentlich bei gehäuftem Auftreten der Krankheit — ist neben den üblichen sonstigen Maßnahmen einer energischen Bekämpfung der Fliegen und ihrer Brut große Aufmerksamkeit zu schenken.

Die Schutzimpfung mit einem bazillär-toxisch-antitoxischen Ruhrimpfstoff kann empfohlen werden.

#### Literatur.

Boehncke, München. med. Wochenschr. 1911. Nr. 22; Deutsch. med. Wochenschrift. 1918. Nr. 21; Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 6. — Boyé, München. med. Wochenschr. 1918. No. 35. — Breinl, Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 22. — Brünauer, Wien. klin. Wochenschr. 1916. No. 5. — Bürgens, Deutsch. med. Wochenschrift. 1918. No. 17. — Czaplewski, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 43. — Ditthorn-Löwenthal, l. c. 1917. No. 31. — Dünner, Berlin. klin. Wochenschrift. 1915. Nr. 46. — Friedmann, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. Nr. 49. — Friedemann-Steinbock, l. c. 1916. Nr. 8. — Friedrich, l. c. 1917. Nr. 51. — Gegenbaur, Arch. f. Hyg. 1919. Bd. 88. H. 5 u. 6. — Gross, München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 24. — Gruber-Schädel, l. c. 1918. Nr. 35. — Handmann, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 30. — Hilgermann, München. med. Wochenschrift. 1907. Nr. 46. — Jakob, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 83. 1917; München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 24. — Jakobitz, Berlin. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 26. — Keck, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. — Kolle-Dorendorf, Deutsch. med. Wochenschrift. 1916. Nr. 19. — Kohler-Veiel, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 27. — Kruse, Deutsch. med. Wochenschr. 1903. Nr. 1 u. 3; l. c. 1907. Nr. 8 u. 9; l. c. 1915. Nr. 36; München. med. Wochenschr. 1917. Nr. 40; Verhandl. d. deutsch. Kongr. f. inn. Med. Warschau 1916. — Küster, München. med. Wochenschr. 1908. Nr. 35. — Kutscher, l. c. 1915. Nr. 36. — Lentz, Dysenterie (Kolle-Wassermann, Bd. 3. 1913. — Mayer, O., München. med. Wochenschr. 1910. Nr. 49; Klin. Jahrb. Bd. 23. 1910. — Seligmann-Cossmann, München. med. Wochenschr. 1915. Nr. 52; l. c. 1916. Nr. 2. — Schweriner, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 10. — Schiemann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916. — Schmidt, l. c. Bd. 81. 1916. — Schmitz, l. c. Bd. 84. 1917. — Soldin, Deutsch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 29. — Sternberg, Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 40. — Stark, München. med. Wochenschr. 1916. Nr. 49. — Steuernagel, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 12. — Schult, l. c. 1917. Nr. 31. — Sonne, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1915. Nr. 75 u. 76.

#### Inhalt.

**Alagna, G.**, Beitrag zur Aetiologie und feinen Struktur des Rhinoskleroms. Mit 3 Abbildungen im Text. S. 38.  
**Bernhard, H.**, Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung einiger neuer Silberpräparate, S. 46.  
**Ohira, Toshinobu**, Ueber die bakterizide Wirkung des Urotropins, S. 63.  
**Olsen, Otto**, Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918—19—20. II, S. 12.

**Osterwald, Hans, u. Tänzer, Ernst**, Ein Jahr Anophelenbeobachtung, S. 42.  
**Schussnig, B.**, Beitrag zur Zytologie der Schizomyceten. Mit 1 Tafel. S. 1.  
**Seyfarth, Carly**, Parasiten im Pankreas. (Ascariden, Cestoden, Echinokokken, Distomen), S. 27.  
**Strempel, Rudolf**, Beobachtungen bei Dysenterie, S. 68.

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 85. Heft 2.

Ausgegeben am 12. Oktober 1920.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Aetiologie der Influenza.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer), Abteilung: Städtisches Untersuchungsamt (Leiter: Prof. Dr. C. Prausnitz).]

Von Dr. Felix E. B. Loewenhardt, Assistent am Institut.

Mit 4 Kurven im Text.

Im Sommer 1918 trat die Frage nach der Aetiologie der Influenza wieder in den Vordergrund des Interesses der Bakteriologen. Die Grippe oder Influenza, die seit über 8 Jahrhunderten in mehr oder weniger großen Zeitabständen — man kennt etwa 100 Epidemien und Pandemien — Deutschland und das übrige Europa heimgesucht hat, trat erneut, von Spanien aus, wohin sie anscheinend aus China eingeschleppt worden war, ihren Beutezug durch Europa an und forderte mit außerordentlicher Heftigkeit ihre zahlreichen Opfer gerade unter den kräftigsten und scheinbar widerstandsfähigsten Bewohnern unseres Vaterlandes.

In der Geschichte der Influenza oder Grippe bildet einen Markstein die während der Pandemie von 1889/91 von Richard Pfeiffer 1891 veröffentlichte Entdeckung des hämoglobinophilen Influenzastäbchens, das von ihm als der Erreger der Krankheit angesprochen wurde. Zunächst wurde der Pfeiffersche Influenzabazillus unwidersprochen als der Erreger der 90er Epidemie von allen Bakteriologen anerkannt; später, als man bei manchen lokalen Grippeepidemien die Influenzabazillen nicht fand, andererseits sich die Bazillen gelegentlich bei Komplikationen anderer Infektionskrankheiten, wie Scharlach, Diphtherie, Masern und Keuchhusten, nachweisen ließen, wurde gegen die ätiologische Bedeutung der Pfeifferschen Bazillen von verschiedenen Seiten Einspruch erhoben (Jehle, Jochmann, Wohlwill, Auerbach, Süßwein, Lieb-scher, zit. bei Scheller).

Zu Beginn der jetzigen Epidemie wurde eifrig nach dem Pfeifferschen Bazillus gefahndet; war doch mit dem erneuten Auftreten der Grippe die Frage nach der Aetiologie wieder in den Vordergrund des Interesses der Bakteriologen getreten. Die Resultate aus der ersten Zeit der jetzigen Pandemie waren ganz verschiedener Art: während einige Bakteriologen Mißerfolge hatten, gelang im Breslauer Institut R. Pfeiffer der Nachweis der Influenzabazillen sofort bei den ersten, hier bekannt gewordenen Fällen; es handelte sich um eine Anzahl kriegsgefangener Russen aus dem Lazarett des schlesischen Kohlenbezirks<sup>1)</sup>. Ebenso wie

1) Einige Autoren, u. a. Mandelbaum, behaupten, daß der Influenzabazillus nur ein Begleitbakterium der Krankheit wäre, und stützen sich hierbei darauf, daß der Influenzabazillus nur in späteren Stadien der Epidemien nachgewiesen werde. Das stimmt auch nicht für die Epidemie 1889/90, da der mikroskopische Nachweis der Influenzabazillen auf das Frühjahr 1890 zurückgeht, wenn auch die Veröffentlichung erst 1891 erfolgte. Bei der jetzigen Epidemie fanden sich die Bazillen, wie erwähnt wurde, bereits in den ersten Fällen.

Pfeiffer konnten von positiven Befunden berichten: Uhlenhuth, Gotschlich, Schürmann, Simmonds, Kossel, v. Bergmann, Klemperer, Nestlinger, Dietrich, Neufeld und Papamarku, Schiemann, Deusling, Fromme, Olsen, Sobernheim, Korbsch, Micheli und Satta u. a. m., und nach brieflicher Mitteilung an Herrn Geh. Rat Pfeiffer auch Czaplewski, Neißer, Braun, Scheller und Möllers (80 Proz. positive Influenzabazillenbefunde in Rumänien). Die Züchtung aus inneren Organen am Sektions-tisch gelang Simmonds, Czaplewski, Neißer, Dietrich, Kossel u. a. m. Ferner gelang es Hößlin (in 2 Fällen) und Schemensky, Influenzabazillen aus dem Blut Grippekranker zu züchten. Die ausländische Literatur steht mir leider, mit Ausnahme einiger Sonderabdrücke, nicht zur Verfügung. Neben Galli-Valerios Befunden ist besonders erwähnenswert die Tatsache, daß in Buenos-Aires R. Kraus in 60 Proz. der zahlreichen untersuchten Fälle positive Resultate hatte.

Des weiteren wurden die Influenzabazillen in Frankreich und England (Netter, Besançon, Hammond, Rolland, Shore, Abrahams, Hallows, Eyre und French, Leishman) und namentlich in Spanien (de Salazar) mit großer Regelmäßigkeit gefunden.

Ueber negative Befunde berichteten Mandelbaum, Hirschbruch, Lubarsch, Benda, Schmorl, Hesse, Schöppler, Kökkchen, v. Gruber, Kolle, U. Friedemann, Schottmüller u. a.

Unter Berücksichtigung dieser negativen Ergebnisse ist es nicht erstaunlich, daß manche Autoren andere Bakterien als die Erreger angesprochen haben. Bernhard und Meyer und Bernhard bringen ihren „*Diplococcus epidemicus*“ mit der Aetiologie der Epidemie in Zusammenhang; Leitner fand gramnegative Diplostreptokokken; kürzlich erschien noch eine Arbeit von van Hoogenhuijze, der aus dem Blut 34 mal einen gekörnten oder septierten und unter Umständen pestähnlichen Bazillus züchten konnte, der vom Serum Grippekranker agglutiniert wurde und für Laboratoriumstiere nicht pathogen war. Da es sich hier offenbar keineswegs um einheitliche Bakterien handelt, müssen alle diese Befunde gegenüber dem regelmäßigen Vorkommen der Influenzabazillen mit größter Reserve betrachtet werden.

Sehr naheliegend war die Annahme, daß bei der Influenza ein invisibles, resp. filtrierbares Virus vorhanden sein könne. Hier wäre zuerst zu erwähnen v. Angerer, der kleinste Körnchen im Blut und Lungen-saft der Leichen an Grippe Verstorbener gefunden hat, die er angeblich in Traubenzuckerbouillon züchten konnte: Binder und Prell berichten über den v. Angererschen ähnlichen Gebilde, die sie als Aenigmoplasma influenzae bezeichnen; ähnliche Befunde hatte auch Leschke und ferner Bradford, Bashford und Wilson, die aus dem Blut und Sputum Influenzakeranker filtrierbare, streng anaerobe Organismen züchteten, die sehr klein und kokkenähnlich waren; die Kulturen erhielten sie auch aus Lungen, Drüsen, Herz, Leber, Milz und Nieren an Grippe Verstorbener.

Es sind auch, z. T. wohl unter dem Einfluß der Kruseschen Schnupfenuntersuchungen, Versuche über die künstliche Erzeugung von Influenza durch Filtrate gemacht worden. So filtrierte Selter Gurgelwasser frisch Erkrankter und Kochsalzwasser, in dem ein Abstrich der hinteren Rachenwand dieser Patienten ausgeschüttelt war, durch Berkefeld-Filter. Das verspraye Filtrat inhalierte er selbst und eine

Laborantin, ohne jedoch irgendwie typische Krankheitserscheinungen zu erzeugen.

Ueber positive Ergebnisse mit Filtraten berichten Nicolle, Lebaillly, die bei einem Menschen, dem sie subkutan filtriertes Bronchialsekret einspritzten, Influenza hervorgerufen haben wollen, während die intravenöse Injektion von filtriertem Blut kein Ergebnis hatte. Als ganz zweifelhaft ist der von Dujarrie de la Rivière beschriebene Selbstversuch zu betrachten, in dem er durch intravenöse Injektion von filtriertem Blut eines Grippekranken Immunität gegen eine Infektion seiner Nasen- und Pharynxschleimhaut mit Grippematerial erworben haben will.

In den Versuchen von Gibson, Bowman und Connor erkrankten Affen nach Inokulation des filtrierten Grippematerials unter die Konjunktivalschleimhaut oder nach Einbringung des filtrierten Materials in die Nasenlöcher.

Alle diese Angaben sind nur mit großer kritischer Reserve zu bewerten. Jedenfalls sind positive Uebertragungsversuche am Menschen, die während des Herrschens einer Influenzaepidemie ausgeführt wurden, relativ wenig beweisend. Diesen bisher veröffentlichten wenigen Versuchen stehen denn auch u. a. die sorgfältigen und zahlreichen Untersuchungen von Friedberger und Konitzer entgegen, die in einer größeren Versuchsreihe das durch Berkefeld-Liliput-Kerzen filtrierte Sputum frischer und älterer Grippefälle, sowie filtrierten Lungensaft und filtriertes Exsudat frisch Verstorbener nach vorheriger Sterilitätsprüfung durch 26 Personen inhalieren ließen. In keinem Fall trat eine Erkrankung ein, auch Fieber wurde bei regelmäßiger Messung nicht festgestellt. Ebenso berichtet Kruse über negative Resultate mit filtrierter Nasenspülflüssigkeit von Grippekranken.

Wenden wir uns nun wieder dem Pfeifferschen Bazillus zu, so wäre die Frage seiner ätiologischen Bedeutung durch Infektionsversuche, die in influenzafreier Zeit ausgeführt werden, eindeutig zu lösen, um die ätiologischen Anforderungen Robert Kochs streng zu erfüllen. Bekanntlich ist der Influenzabazillus für Laboratoriumstiere, mit Ausnahme der hier zurzeit nicht zu beschaffenden Affen, nicht pathogen. So bleibt nur das Experiment am Menschen übrig. In der Literatur gibt es nur einen unfreiwilligen, aber sehr beweisenden Versuch am Menschen: Kretz zerbrach beim Arbeiten mit Influenza eine Kultur und erkrankte nach 24 Stunden an einer typischen Influenza, an der er zwei Monate daniederlag. Dies geschah in influenzafreier Zeit. Der Versuch erscheint uns beweiskräftig. Es wäre zur endgültigen Klärung der Frage natürlich erwünscht, weitere Versuche an einer größeren Anzahl von Menschen auszuführen, aber in Anbetracht dessen, daß die Influenza in so außerordentlich schwerer Form auftritt, konnten wir uns bisher zu derartigen Menschenversuchen nicht entschließen.

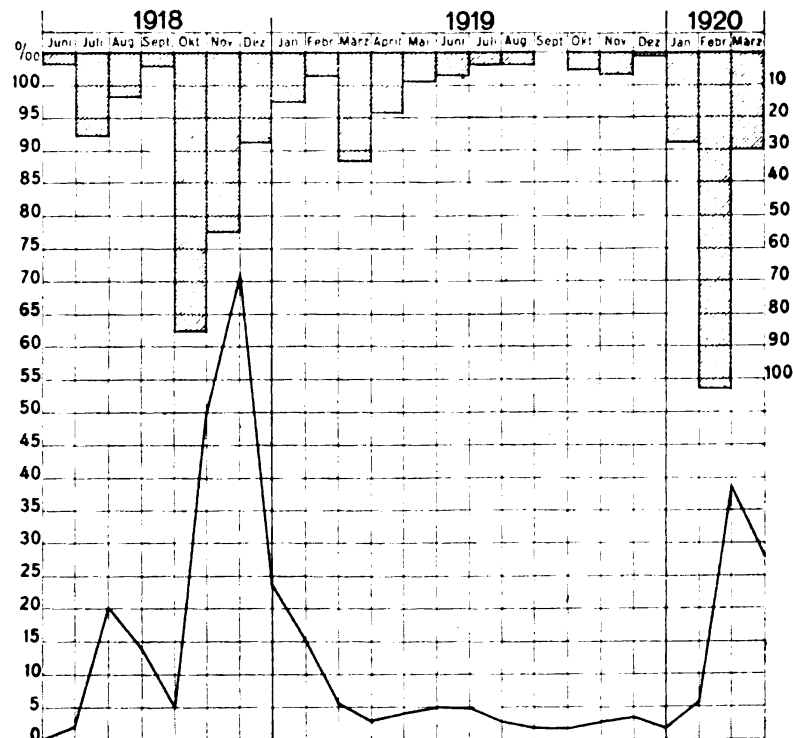
Beweismaterial für die Aetiologie der Influenza läßt sich aber auch noch auf einem anderen, von uns beschrittenen Wege beibringen, nämlich dem regelmäßigen Nachweis des Vorkommens der Influenzabazillen bei Grippekranken und dem Verschwinden der Bazillen in der Zwischenzeit zwischen den Epidemien.

Bevor nun die im weiteren Verlauf der Epidemie im Breslauer Institut erhobenen Befunde besprochen werden — über den Anfang der Epidemie hat bereits Leichtentritt ausführlich berichtet — seien noch einige allgemeine Fragen kurz erwähnt. In der Geschichte der

Influenza sehen wir, daß die Pandemien der Seuche in großen Perioden verlaufen und etwa alle Menschenalter auftreten.

Ist dieser periodische Verlauf nur als ein jeweiliges Aufflackern latenter Infektion in der gleichen Bevölkerung aufzufassen oder erklärt es sich ungezwungen durch eine Neueinschleppung von außen (endogener oder exogener Ursprung)?

Durch ein- oder mehrmaliges Ueberstehen der Krankheit wird im Verlauf der Pandemie anscheinend eine gewisse Immunität erworben. Nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse auf dem Gebiete der Epidemiologie ist es selbstverständlich, daß nach Abflauen der Epidemie längere Zeit Bazillenträger zurückbleiben. So hat man zuweilen, wie schon erwähnt, bei akuten und chronischen Infektionskrankheiten, beson-



Kurve 1. Grippemorbidityskurve der Allgem. Ortskrankenkasse Breslau ( $\frac{0}{00}$  der Zahl der Versicherten). Die schraffierten Pfeiler geben die positiven Influenzabazillenbefunde wieder.

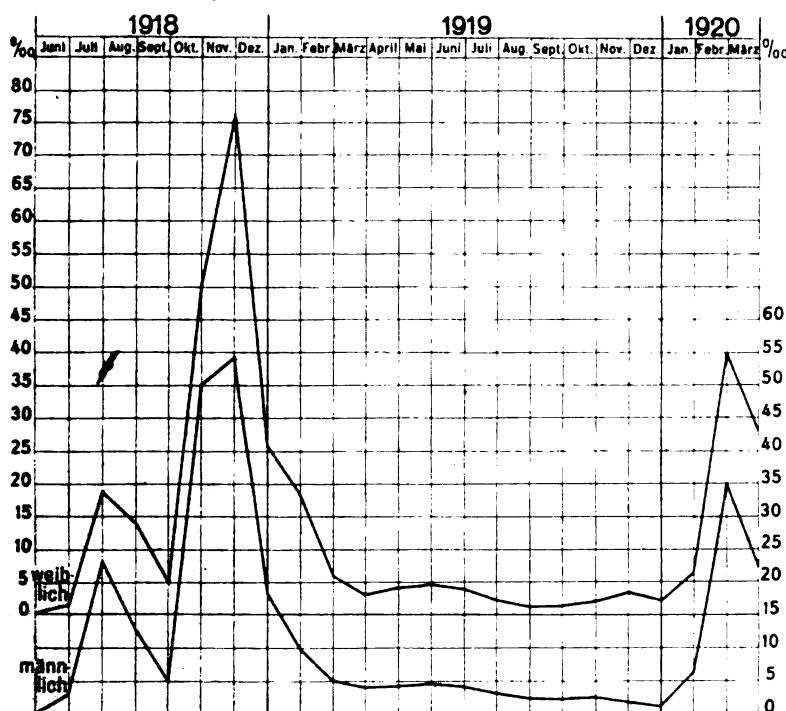
ders auch im Kaverneninhalte von Tuberkulösen, noch längere Zeit nach Erlöschen der Seuche Influenzabazillen als Nebenbefund festgestellt. Derartige Bazillenträger mögen auch gelegentlich unter gewissen Umständen kleine, örtlich begrenzte Epidemien hervorrufen, was vielleicht für die von Scheller beschriebene Königsberger Epidemie 1906/07 und 1907/08 zutreffen könnte. Scheller konnte jedoch durch ausgedehnte Untersuchungen feststellen, daß Influenzabazillen-Befunde nur während der Epidemie in weiterem Umfange nachweisbar waren, nach Abflauen der Epidemie aber rasch zurückgingen und schließlich ganz verschwanden.

Bei der jetzigen Grippe-Pandemie ist nach dem Verlauf eine solche endogene Entstehung mit großer Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Es scheint, daß die Grippe 1918 in Spanien europäischen Boden von neuem betreten hat, daß also der jetzige Seuchenzug wohl exogenen Ursprungs ist.

Man muß daran denken, daß, vielleicht in Innerasien, Herde der Krankheit bestehen, ähnlich wie bei der Pest, der Cholera usw. Hier dürfte von Zeit zu Zeit eine besonders virulente Erregerrasse entstehen. Fällt ihr Entstehen in eine Zeit, wo die in dem vorhergehenden Seuchenzug durch die Menschheit erworbene aktive Immunität erloschen oder stark herabgesetzt ist, so ist die Voraussetzung für die neue Pandemie gegeben. Es ist danach wohl kein Zufall, daß die Influenza-Seuchenzüge meist um ein Menschenalter auseinanderliegen.

Wir beginnen unsere Untersuchung mit dem Studium des Krankheitsverlaufs in der Bevölkerung Breslaus, über den die nachstehenden Kurven näheren Aufschluß geben.

Die Unterlagen dazu verdanke ich dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Verwaltungsdirektors der hiesigen Allgemeinen Ortskranken-



Kurve 2. Nach Geschlechtern getrennte Grippemorbidityskurve der Allgem. Ortskrankenkasse Breslau (%<sub>100</sub> der Zahl der Versicherten). Der Uebersichtlichkeit wegen wurden beide Kurven auf verschiedene Ordinate bezogen und zwar die Kurve der weiblichen auf die links-, die der männlichen Mitglieder auf die rechtsstehenden Ordinatenwerte.

kasse, Herrn Stadtrat Zimmer, und den Mitteilungen des Breslauer Statistischen Amtes (Prof. Neefe).

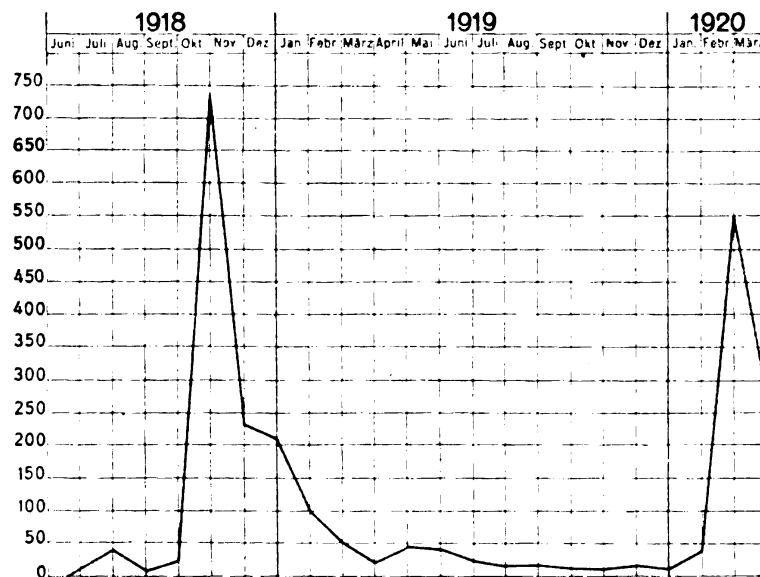
Kurve 1 gibt das Verhältnis der Zahl der Grippeerkrankungen der hiesigen Ortskrankenkassemmitglieder zur jeweiligen Mitgliederzahl (z. Zt. ca. 150 000 Mitglieder) seit Juni 1918 wieder.

In Kurve 2 sind diese Zahlen nach Geschlechtern getrennt. Wir ersehen aus diesen Kurven, daß auch in Breslau die Epidemie im Juli 1918 mit ziemlicher Heftigkeit einsetzte, ihren ersten Höhepunkt im Juli erreichte, um im August mäßig und im September stark nachzulassen: im Oktober erneuter, außerordentlich heftiger Anstieg, im November die bisher höchste Spitze (über 7 Proz. aller Kassenmitglieder sind an Grippe krank gemeldet), im Dezember starker Rückgang und sodann im Januar und Februar 1919 allmähliches Abflauen; im weiteren Verlauf des Jahres



1919 nur eine relativ mäßige Zahl von Erkrankungen; im Januar 1920 erneuter Anstieg mit einer 3. Spitze im Februar. Zur Zeit der Niederschrift der Arbeit, Mitte März, ist wiederum ein stärkerer Rückgang festzustellen; ob die Epidemie sich allerdings nun wirklich ihrem Ende zuneigt, ist noch nicht abzusehen, da ja erfahrungsgemäß sich an jede große Epidemie Ausläufer anzuschließen pflegen.

Aus Kurve 2 ist ersichtlich, daß im allgemeinen die männlichen und weiblichen Erkrankungsziffern sich ziemlich gleichförmig zueinander verhalten; auffallend ist eigentlich nur das erhebliche Ueberwiegen der weiblichen Erkrankungsziffern im November 1918. Allerdings lagen im Zeitraum Juli-Dezember 1918 die monatlichen Grippe-Erkrankungsziffern nicht für beide Geschlechter getrennt vor, sondern nur für das ganze Halbjahr die Grippezahlen und für jeden Monat die Erkrankungen an sämtlichen Infektionskrankheiten. Da aber in diesem Zeitraum die



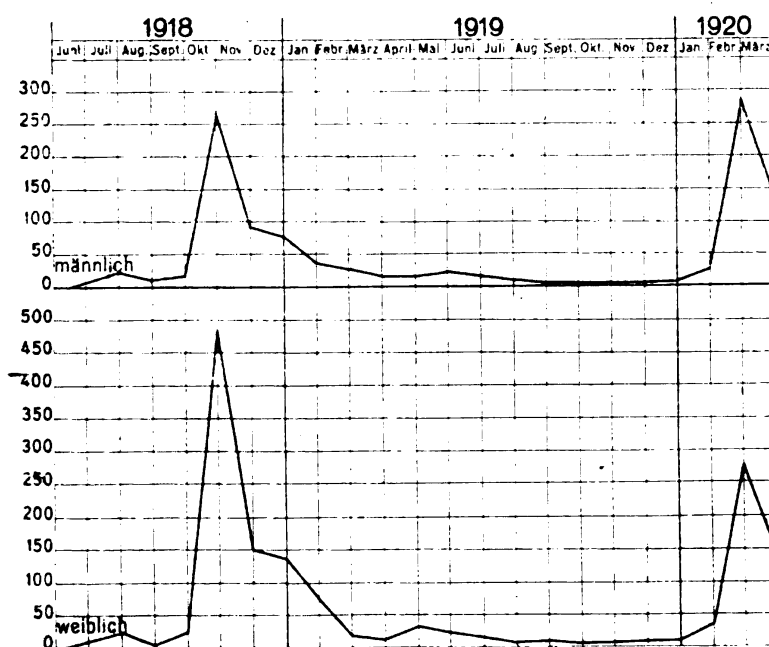
Kurve 3. Grippemortalitätskurve der Stadt Breslau.

Grippe 99 Proz. aller Infektionskrankheiten ausmachte, war eine Schätzung mit geringfügigem Fehler möglich. Am oberen Rande der Kurve 1 sind in Stäben die Zahlen der positiven Influenzabazillenbefunde eingetragen worden. Aus äußeren Gründen konnten leider nicht in allen Monaten gleichviel Untersuchungen angestellt werden. Besonderen Wert lege ich auf die Zahlen seit September 1919, seit welcher Zeit regelmäßig Umgebungsuntersuchungen in größerem Umfang gemacht wurden. Wir sehen hier das starke Ansteigen der positiven Ergebnisse besonders im Februar 1920.

Den in der Kurve verzeichneten absoluten Zahlen entspricht auch das Verhältnis der positiven Befunde zur Gesamtzahl der Untersuchungen. Näheres bringt dann noch Tab. 1 weiter unten.

Kurve 3 und 4 geben ein Bild der Gesamtmortalität der Breslauer Bevölkerung, Kurve 3 allgemein, Kurve 4 getrennt nach Geschlechtern. Wir sehen ein dem Epidemieverlauf entsprechendes Verhalten: die größte Zahl der Todesfälle im Oktober 1918 und Februar 1920. Unter Berücksichtigung der nicht als an Grippe, sondern als an Pneumonie verstorbenen Gemeldeten würden sich die Zahlen entsprechend annähernd verdoppeln. Der Uebersichtlichkeit halber wurde diese 2. Kurve nicht mitaufgeführt.

Wenden wir uns nun zu den Untersuchungen, die ich auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Pfeiffer, dem ich für die dauernde Unterstützung im Verlauf der Arbeit zu großem Dank verpflichtet bin, in Fortsetzung der Leichtentrittschen Untersuchungen ausgeführt habe, so sei vorweg bemerkt, daß sie im Anschluß an diese ersteren während der ganzen bisherigen Epidemiedauer mit kurzen Unterbrechungen fortlaufend gemacht worden sind; sie belaufen sich auf über 800 Fälle und umfassen neben zahlreichem Material, das von Privatärzten der Stadt eingesandt wurde, Fälle, die von der Kinder-, Medizin-, Ohrenklinik der Universität, den städtischen Krankenhäusern Wenzel-Hancke und Allerheiligen (Pathologisches Institut), dem St. Josefskrankenhaus und dem Städtischen Säuglingsheim lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt worden waren. Zu besonderem Danke verpflichtet bin ich unserer



Kurve 4. Grippemortalitätskurve der Stadt Breslau. (Nach Geschlechtern getrennt.)

Hilfsassistentin Fräulein Heinke, ohne deren unermüdliche Hilfe die Durchführung der Untersuchungen nicht möglich gewesen wäre.

In Anbetracht dessen, daß sich immer wieder ergab, wie außerordentlich wichtig und bedeutungsvoll für das Untersuchungsergebnis die Methodik ist, sei es mir gestattet, zunächst nochmals auf die angewandte Technik hinzuweisen. Es ist unter allen Umständen daran zu denken, daß die Lebensfähigkeit des hämoglobinophilen Influenzastäbchens unter ungünstigen Bedingungen sehr gering ist und daß dasselbe durch genügsamere Begleitbakterien, besonders durch Kokken, im Sputum und in den Organen leicht und rasch überwuchert wird; daher ist es von großer Wichtigkeit, daß alles Untersuchungsmaterial schnellstens, möglichst sofort nach der Entnahme, verarbeitet wird. Bei Abstrichen von der hinteren Rachenwand, einem Lieblingssitz der Influenzabazillen, ist nach unseren Erfahrungen schon 2—3 Stunden nach der Entnahme ein positives Ergebnis nur in höchstens 20—30 Proz. der Fälle zu erwarten. Dank dem Entgegenkommen der betreffenden Herren Kollegen war es mir möglich, eine größere Anzahl der Fälle direkt am Krankenbett,

bezw. Sektionstisch zu verarbeiten. Ueber die näheren Ergebnisse wird weiter unten berichtet.

Es wurde also, wie zum Teil bereits von Leichtentritt beschrieben, folgendermaßen bei der Untersuchung vorgegangen:

1. Rachenabstriche: Das Material wird der hinteren Rachenwand mit gebogenem Wattetupfer entnommen; der Tupfer wurde sofort auf einer Ecke einer mit Taubenblut bestrichenen Agarplatte, jedoch stets an einer von Taubenblut freien Stelle, möglichst vollständig ausgeschmiert und sodann mit der Platinöse feine Verdünnungsstriche gemacht, so daß das Taubenblut möglichst innig mit dem Untersuchungsmaterial vermischt wird. Die direkte Aussmierung des Tupfers in das Taubenblut erwies sich als unzweckmäßig, da das Blut bei der Verarbeitung von dem Wattetupfer sonst aufgesogen wurde<sup>1)</sup>.

2. Sputum: Eine Sputumflocke wurde mit wenigen Kubikzentimetern 0,8-proz. Kochsalzlösung in einem Reagenzglase gründlich ausgeschüttelt; von dieser Aufschwemmung wurden mehrere Oesen auf die Platte gebracht, sorgfältig mit dem Taubenblut auf der Agaroberfläche ausgestrichen. Außerdem wurden Originalpräparate mit Fuchsin- und Gram-Färbung angefertigt.

3. Eiter und andere Sekrete wurden teils direkt, teils nach Verdünnung in Kochsalzlösung entsprechend wie Sputum verarbeitet.

4. Leichenteile: Es wurde stets mit einem heißen Messer die Oberfläche des Organs abgeglüht und mit sterilem Messer eine frische Schnittfläche hergestellt. Davon wurden dann mit der Platinöse Abstriche gemacht oder auch ein Stückchen mit steriler Schere herausgeschnitten, steril zerquetscht und in Kochsalzlösung ausgeschüttelt. Die weitere Verarbeitung geschah, wie bei 1 und 2 beschrieben.

Im Originalausstrich boten sich die typischen, von Pfeiffer seinerzeit beschriebenen Formen und Bilder der Influenzabazillen angeordnet in Haufen, Nestern, Fischzügen, sowie um die Leukozyten herum oder in ihnen phagozytiert. Zuweilen fanden sich im Original nur allerfeinste Körnchen, während die Kultur massenhaft Influenzabazillen aufwies. Diese Formen fanden sich aber auch im Gemisch mit normalen Influenzabazillen, daneben jedoch auch Scheinfädenbildung und Involutionsformen. In älteren, nicht rechtzeitig überimpften Kulturen sehen wir dieselben Bilder. Wir betrachten diese Körnchen auch auf Grund von Tierversuchen als den Granula der Vibrionen ähnliche Degenerationsprodukte der Influenzabazillen<sup>2)</sup>.

Zur Kultur haben wir auch weiterhin den Pfeifferschen Taubenblutagar verwandt. Es ist ein 2½-proz. Agar, der für Phenolphthalein schwach sauer ist. (1 Liter Nährboden ist um 12–14 ccm n/1 Alkali vom Phenolphthaleinneutralpunkt entfernt.) Dies entspricht mittlerer alkalischer Reaktion gegen Lackmus. Auf jede Agarplatte werden 2–3 Oesen defibrinierten Taubenblutes in einem Strich von etwa 1½ cm Breite und 3–4 cm Länge ausgestrichen. Wir erhielten mit diesen Platten die besten Resultate. Für Weiterzüchtungen und sonstige

1) Zur Erläuterung, wie wichtig die Art der Verarbeitung ist, diene folgender kleiner Versuch:

Bei 10 Fällen wurde das entnommene Material einmal nach Art der Diphtherieverarbeitung auf die Platte einfach ausgeschmiert, das andere Mal in der für unsere Technik beschriebenen Art verarbeitet. Im ersten Falle war das Ergebnis 5, im zweiten 10 positive Resultate.

2) Die Ueberimpfung muß bei neu herausgezüchteten Kulturen zunächst alle 3 Tage vorgenommen werden, später genügt es, sie alle 6 Tage vorzunehmen.

Untersuchungen, zu denen blutkörperchenfreie Kulturen benötigt werden, ist der von Hundeshagen beschriebene Blutagar sehr geeignet, während er für die Isolierung der Influenzabazillen aus Bakterien gemengen wegen seiner Undurchsichtigkeit weniger geeignet erscheint. Mit dem Lewinthschen Agar hatten wir, trotz häufiger Versuche, nicht sehr gute Ergebnisse. Trotz genauer Befolgung der vorgeschriebenen Technik waren die Wachstumsresultate sehr ungleich. Versuche, das Taubenblut durch Menschen- oder Kaninchenblut zu ersetzen, ergaben zwar auch ein leidlich gutes Wachstum der Influenzabazillen, jedoch entwickelten diese eigentlich nur auf Taubenblutagar die ihnen eigentümliche außerordentliche Wachstumsenergie: nach 12 Stunden sind hier die Kolonien schon sehr gut mit bloßem Auge erkennbar; ganz besonders charakteristisch ist ihr Aussehen bei 25-facher Mikroskopvergrößerung, wenn man den Spiegel des Beleuchtungsapparates bei herausgenommenem Kondensor etwas seitlich richtet, so daß der Agar selbst dunkel erscheint und sich nur die Kolonien dafür doppelt plastisch abheben. Die Influenzokolonie erscheint dann glashell mit einem kleinen, erhabenen Kegel in der Mitte, der das Licht scharf reflektiert. Junge Influenzabazillen sehen fast ebenso aus wie etwa gleichaltrige Streptokokkenkolonien, nur sind letztere fast stets kleiner und weniger lichtbrechend; für Pneumokokken charakteristisch ist der bläuliche Schimmer der Kolonien.

Zur Identifizierung wurden von jeder Originalkultur Klatschpräparate angefertigt; außerdem wurden die verdächtigen Kolonien zur Reinzüchtung abgestochen. Die Reinkulturen wurden auf ihre Wachstumsfähigkeit auf gewöhnlichem Agar geprüft, wobei die zur Prüfung bestimmten Kolonien zunächst in etwas Bouillon aufgeschwemmt wurden, damit kein Hämoglobin auf den Agar übertragen würde.

Material, das nicht am selben Tage entnommen war, wurde nur in den seltensten Fällen verarbeitet, da die Influenzabazillen trotz positiven Befundes im Originalpräparat in der Kultur nicht mehr wuchsen; dieselbe Beobachtung machten wir auch öfters bei den aus der Kinderklinik eingesandten Sputen von Säuglingen, die durch Ausheberung des Magens gewonnen waren, wo offenbar die Influenzabazillen durch den Magensaft abgetötet worden waren.

Ueber unsere Untersuchungen seien zunächst die folgenden Tabellen aufgeführt, die eine Einteilung der Fälle nach Art des Materials und der Erkrankungen bringen; in Tabelle I sind dabei die verschiedenen Perioden der Pandemie analog der oben angegebenen Kurve 1 berücksichtigt (s. Tab. I, S. 90).

Wie diese Tabelle ergibt, fanden sich bei klinisch nicht manifest Grippekranken während des 1. großen Höhepunktes der Epidemie als Nebebefund Influenzabazillen in 25,4 Proz., in der Zeit des Abflauens in 16,07 Proz., während der Zeit des 2. Höhepunktes nur in 5,26 Proz. der Fälle. Diese Fälle sind als Bazillenträger, bzw. chronische Grippeerkrankungen anzusehen, ebenso wie wir es auch bei anderen Infektionskrankheiten beobachten; jedenfalls ergeben diese verhältnismäßig spärlichen positiven Befunde, daß von einem ubiquitären Vorkommen der Influenzabazillen keine Rede ist. Von großem Interesse sind die beiden Fälle von Influenzabazillenbefund bei 2 Gesunden, die kurz darauf an klinisch typischer Grippe erkrankten.

Die Untersuchungen über das ubiquitäre Vorkommen der Influenzabazillen sollen auch nach dem eudgültigen Erlöschen der jetzigen Pandemie fortgesetzt werden.

Tabelle I.

Art des Materials	Juni — Dez. 1918 <sup>1)</sup>			Jan. — März 1919			April — Dez. 1919			Jan. — März 1920		
	Gesamt-zahl	Positiv Zahl	Proz.	Gesamt-zahl	Positiv Zahl	Proz.	Gesamt-zahl	Positiv Zahl	Proz.	Gesamt-zahl	Positiv Zahl	Proz.
Rachenabstriche von klinischer Influenza	—	—	—	10	7	70	19	—	0	96	58	60,41
Sputum von klin. Influenza	289	156	54	47	32	68,08	35	25	71,43	78	65	83,33
Summe des Grippe-Materials	289	156	54	57	39	68,42	54	25	46,03	174	123	70,7
Sputum von Tbc. der Atmungsorgane	228	58	25,4	6	—	0	162	19	11,7	11	—	0
Rachenabstriche von anderen Erkrankungen der Atmungsorgane	—	—	—	5	—	0	12	—	0	22	3	13,6
Sputum von anderen Erkrankungen der Atmungsorgane	—	—	—	24	8	33,33	172	8	4,58	22	—	0
Rachenabstriche von Gesunden	—	—	—	21	1 <sup>2)</sup>	4,76	20	—	0	21	1 <sup>2)</sup>	4,76
Summe des klinisch Nicht-Grippe-Materials	228	58	25,4	56	9	16,07	366	27	7,37	75	4	5,26

Die von mir in den letzten 15 Monaten planmäßig ausgeführten Untersuchungen sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II der untersuchten Fälle.

Art	Sputum			Rachenabstriche			Bemerkungen
	Gesamt-zahl	Positive Fälle Zahl	Proz.	Gesamt-zahl	Positive Fälle Zahl	Proz.	
Grippe	160	122	76,25	125	65	52 <sup>1)</sup>	1) Siehe Tabelle III.
Tuberkulose der Atmungsorgane	179	19	10,62	—	—	—	
Sonstige Erkrankungen der Atmungsorgane	218	16	3,67	39	3	7,7	
Gesunde	—	—	—	62	2	3,2	
Summe der Nicht-Grippefälle	397	35	8,81	101	5	4,95	

Gesamtzahl der Grippefälle 285, positive 187 = 65,62 Proz.

„ „ Nicht-Grippefälle 498, „ 40 = 8,03 „

1) Die Zahlen über die Untersuchungen im Juni — Dezember 1918 sind der Arbeit von Leichtentritt entnommen.

2) Beide Personen, die verschiedenen Haushalten angehörten, erkrankten je 2 Tage später an typischer Grippe mit positivem Influenzabefund im Sputum.

Für die Kritik der negativen Untersuchungsbefunde ist besonders wichtig die nachstehende Tab. III. da aus ihr sich ergibt, daß nur bei unmittelbar nach der Materialentnahme angesetzten Kulturen günstige Aussichten für den Influenzabazillennachweis bestehen.

Tabelle III.

Rachenabstriche von Grippekranken			
Verarbeitet Stunden nach der Ent- nahme des Ma- terials	Gesamt- zahl	Positive Fälle	
		Zahl	Proz.
Sofort am Kranken- bett	45	41	91,11
4–6 Std. später	79	24	30,4
Nach 24 Std.	11	0	0,0

Von 160 klinischen Grippeerkrankungen, deren Sputum untersucht wurde, gelang der Influenzabazillennachweis in 122 Proben (76,25 Proz.); bei sehr vielen Fällen fanden sie sich fast in Reinkultur: daneben wurden *Micrococcus catarrhalis*, Streptokokken, Staphylokokken, Pneumokokken und gramnegative Stäbchen gesehen.

Rachenabstriche von klinischer Grippe wurden in 125 Fällen untersucht, bei 65 = 52 Proz. mit positivem Ergebnis. Dieser Prozentsatz würde sich jedoch ganz bedeutend erhöhen, wenn man von vornherein die Kurzlebigkeit der Influenzabazillen, wie sie die in Tab. III niedergelegten Erfahrungen so deutlich erweisen, genügend berücksichtigt und in allen Fällen der Entnahme sofort die Verarbeitung des Materials folgen gelassen hätte. Man vergleiche Tab. III: 45 Fälle wurden sofort am Krankenbett zu Kulturen verarbeitet; die Kulturen wurden sobald wie möglich, spätestens innerhalb 1 Std., in den Brutschrank gebracht, von diesen waren 41 = 91,11 Proz. positiv; dagegen ergab das von auswärts eingesandte Material, das aber bereits 4–6 Std. nach der Entnahme sich im Brutschrank befand, nur noch in 30,4 Proz. positive Befunde; in allen 11 Fällen, die erst am nächsten Tage verarbeitet werden konnten, waren Influenzabazillen nicht mehr nachzuweisen. Daß es sich dabei nicht um an und für sich negative Fälle handelte, ergab sich daraus, daß erneute Untersuchungen derselben Fälle bei Verarbeitung des Materials unmittelbar am Krankenbett positive Ergebnisse zeigten.

Ferner wurden 179 Sputa, die zur Untersuchung auf Tuberkulose eingesandt waren, gleichzeitig auf Influenzabazillen untersucht; 19 = 10,62 Proz. waren Influenzabazillen-positiv, es waren dies chronische Tuberkulosen mit mehr oder weniger akuter Exazerbation des Katarrhs. Von diesen 179 Fällen hatten 22 = 12,3 Proz. Tuberkelbazillen im Auswurf, bei 8 = 4,4 Proz. fanden sich sowohl Tuberkelbazillen wie Influenzabazillen. Unter diesen war besonders einer durch die schon im Originalausstrich auffallend große Zahl von Influenzabazillen ausgezeichnet. Es handelte sich um eine schwere, hochfiebernde Lungentuberkulose.

Außerdem wurde zur Aufklärung der Frage die Ubiquität der Influenzabazillen nach dem im Januar und Februar 1919 erfolgten Rückgang der Epidemie, also von März 1919 ab, und in ausgedehnterem Maße seit Oktober 1919 bei Gesunden und bei Personen mit irgend-

welchen Erkrankungen des Respirationstraktus (meist akuten oder chronischen Bronchitiden u. a. m.) fortlaufende Untersuchungen über das Vorkommen des Influenzabazillus angestellt. Zu diesem Zwecke stand das laufende poliklinische Material der Ohren- und Medizinischen Klinik der Universität, Kranke des St. Josefs-Krankenhauses und des städt. Wenzel-Hancke-Krankenhauses und einer Anzahl hiesiger Privatärzte zur Verfügung. Von 218 Sputumuntersuchungen waren 16 = 3,67 Proz. positiv. Ein Teil der positiven Fälle fällt noch in die Zeit des Rückganges der Epidemie im März 1919, von den übrigen wäre als interessant hervorzuheben: 1 Fall von chronischem Siebbeinkatarrh, der 1½ Jahre vorher Grippe gehabt hatte; eine chronische Bronchitis mit Bronchiektasen, wo die Grippe über 1 Jahr zurücklag, und 1 Fall von rezidivierender Rhinitis, wo sich seit Beginn der Epidemie 1918 ständig im Nasensekret Influenzabazillen nachweisen ließen. Außerdem fanden sich bei 39 untersuchten Rachenabstrichen 3mal = 7,7 Proz. Influenzabazillen. Es handelte sich bei den Influenzabazillen-positiven Fällen um chronische Laryngitiden.

Des weiteren wurden Rachenabstriche von 62 gesunden Personen untersucht. Nur 2mal war das Ergebnis positiv; die betreffenden Personen erkrankten 2 Tage später an typischer Grippe. Diese sämtlichen 62 Fälle wurden schnellstens nach der Entnahme, d. h. sofort oder innerhalb der ersten ½ Std. verarbeitet.

Wir sehen also, daß bei Zusammenfassung dieser Resultate in 65,62 Proz. der ausgesprochenen klinischen Grippefälle Influenzabazillen gefunden wurden, während sie nur in 8,03 Proz. der Personen nachweisbar waren, die nicht an manifester Grippe litten. Bei Berücksichtigung der weiten Verbreitung der Grippe sind naturgemäß auch von diesen letzteren wohl viele zur Zeit der Untersuchung oder vorher leicht grippekrank gewesen. Daß die Resultate noch besser waren als die von Leichtentritt mitgeteilten aus der ersten Zeit der Epidemie (75,25 bzw. 65,62 gegen 51,6 Proz. seiner Mitteilungen), ist vielleicht den Verbesserungen der Technik zuzuschreiben.

In einer Anzahl von Fällen wurde Material anderer Art zur Untersuchung auf Influenzabazillen eingesandt. Blut wurde in 7 Fällen untersucht, immer, wie auch schon von Leichtentritt, mit negativem Ergebnis; wie bereits erwähnt, haben nur Hoesslin und Schemensky gelegentlich aus dem Blut von Grippekranken Influenzabazillen züchten können. Aus dem Umstande, daß die Ergebnisse der Blutuntersuchung auch bei schweren Influenzafällen fast immer negativ sind, darf man wohl schließen, daß Influenzabazillen nur selten im strömenden Blut vorkommen, und daß die schweren Krankheitserscheinungen wesentlich durch die Gifte der Bazillen bedingt sind.

Von 6 untersuchten Lumbalpunktaten waren 5 steril, einmal fanden sich Meningokokken. Bei Pleurapunktaten von Grippeempyemen fanden sich unter 12 Fällen 2mal Influenzabazillen, die übrigen Fälle waren teils steril, teils enthielt das Punktat nur Pneumokokken. Der Grund ist wohl darin zu suchen, daß in der Lunge die Influenzabazillen die örtlich gewebsschädigende Ursache darstellen, die es den rasch fortwuchernden Pneumokokken ermöglicht, sich anzusiedeln und zu ihren Prädilektionsorten, den serösen Höhlen, durchzuwandern.

Dagegen gelang es in einem Falle von Mittelohreiterung nach Grippe, reichlich Influenzabazillen im Ohreiter nachzuweisen: der gleiche Befund wurde auch bei der Obduktion zweier weiterer Fälle erhoben.

Mit Rücksicht auf die klinischen und epidemiologischen Verhältnisse findet die Uebertragung der Influenza zweifellos fast stets von Mensch zu Mensch statt. Da die Influenzabazillen in der Außenwelt rasch zugrunde gehen, dürfte als Uebertragungsweg nur die Tröpfcheninfektion in Frage kommen. Der Versuch, Blutagarplatten von Grippekranken anhusten zu lassen, hatte leider kein Ergebnis. Vermutlich gelangte infolge der außerordentlichen Zähigkeit des Grippeputums nur wenig Material auf die Platte.

Außer diesen Untersuchungen bot sich noch Gelegenheit, in 56 Fällen die Organe an Grippe verstorbenen Personen zu untersuchen, zum großen Teil unmittelbar am Sektionstisch. Makroskopisch fanden sich, auch im weiteren Verlauf der Epidemie, die gleichen Bilder, wie sie Leichtentritt u. a. beschrieben haben: Starke Rötung und Schwellung der Trachealschleimhaut, die im Verlauf des ganzen Bronchialbaumes von oben nach unten an Intensität zunimmt; vielfach war die Schleimhaut mit dickem glasig-hellem Schleim bedeckt. Dieser Schleim enthielt fast stets Influenzabazillen in großer Menge; zuweilen war der Belag gelblichgrau. Die Lungen waren äußerst blutreich; in den Fällen, wo die Krankheit innerhalb kürzester Zeit zum Tode geführt hatte, fand sich ausgedehntes Lungenödem. In anderen Fällen waren teils lobäre, teils lobuläre broncho-pneumonische Verdichtungen vorhanden. In 5 Fällen bot das Lungengewebe das Bild des kavernösen Zerfalls, unregelmäßige Löcher im Gewebe von Erbsen- bis Kirschgröße; nur in einem dieser Fälle war gleichzeitig Tuberkulose vorhanden, auf deren Rechnung diese Kavernenbildung hätte gesetzt werden können; in allen 5 Fällen fanden sich massenhaft Influenzabazillen im Kavernensekret, das ebenso glasig-hell und schleimig war, wie es für die Trachea beschrieben wurde. Im großen und ganzen ergab sich, daß, je schneller die Krankheit zum Tode geführt hatte und je kürzer die Zeit zwischen dem Tode und der Verarbeitung des Sektionsmaterials war, um so sicherer der Influenzabazillennachweis gelang. Hatte die Krankheit längere Zeit gedauert oder die Leiche etwas länger gelegen, so fanden sich neben den Influenzabazillen oder ausschließlich Pneumo-, Staphylo-, Streptokokken (1mal *Streptococcus mucosus*) und Fäulniserreger. Daß die oben beschriebene Kavernenbildung auf die Influenzabazillen zurückzuführen ist, wird besonders wahrscheinlich aus einem solchen Falle, der bei Lebzeiten als Lungengangrän diagnostiziert war. Hier enthielt der Kaverneninhalt im Originalpräparat und in der Kultur massenhaft Influenzabazillen, fast in Reinkultur.

In einem Falle fand sich die Trachea von einer Pseudomembran bedeckt, die reichlich Influenzabazillen enthielt.

Es wurden bei unseren 56 Fällen stets die Lungen und mit Ausnahme eines Falles auch die Trachea untersucht; dabei fanden sich 32mal in der Lunge und 31mal in der Trachea Influenzabazillen, 24mal war bei beiden das Ergebnis negativ (57,14 Proz. positive Ergebnisse). Von weiteren untersuchten Organen hatten wir positive Befunde in der Milz (2 von 2 Fällen), Bronchialdrüsen (1 von 1), Kaverneneiter (5 von 5), Ohreiter (2 von 3). Das Gehirn wurde 3mal untersucht, 2 von diesen Fällen waren kompliziert durch eine Meningitis im Gefolge einer Otitis media und Grippenpneumonie. Hier enthielt der Ohreiter reichlich Influenzabazillen und Pneumokokken; im Gehirn aber waren nur noch Pneumokokken nachzuweisen. Leichtentritt ist es dagegen 4mal gelungen, die Influenzabazillen auch im Gehirn nachzuweisen.



Außerdem wurde 1 Fall von klinisch festgestellter Encephalitis lethargica untersucht, der pathologisch-anatomisch nur eine etwas vergrößerte Milz und einen kleinen Niereninfarkt aufwies. Leider war die Leiche nicht mehr frisch und infolge ungeeigneter Sektion zur Untersuchung nicht mehr geeignet. Das Ergebnis war bis auf Fäulnisbakterien völlig negativ. Auch in einem Falle, der makroskopisch das Bild der Encephalitis punctata bot, war bakteriologisch nichts nachzuweisen, die angelegten Platten blieben steril; übrigens waren in der Lunge auch keine Influenzabazillen nachzuweisen. Erst in jüngster Zeit sind von Löwen-thal aus einem Falle von Encephalitis lethargica aus der Milz Influenzabazillen herausgezüchtet worden. Zusammengefaßt, ist der Prozentsatz der positiven Befunde bei Leichenuntersuchungen im weiteren Verlaufe der Epidemie fast derselbe, wie ihn Leichtentritt zu Anfang fand, nämlich 57,14 Proz. in meinen, 60 Proz. in seinen Untersuchungen.

Als Ergebnis unserer Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß die Pfeifferschen Influenzabazillen während der Pandemie mit bemerkenswerter Regelmäßigkeit bei Grippekranken gefunden wurden, während sie in der Zwischenzeit und bei Nichtgrippekranken in der Regel vermißt wurden. Von den Robert Kochschen Forderungen für den Nachweis der ätiologischen Bedeutung eines Bakteriums für eine bestimmte Krankheit, die auf Grund unserer heutigen epidemiologischen Anschauungen etwas modifiziert werden müssen, sind zwei erfüllt. Die dritte ist bisher noch nicht mit Sicherheit erbracht, wenn auch der Kretzsche Versuch entschieden nur in diesem Sinne zu deuten ist.

Die von anderer Seite aufgestellte Behauptung, daß der Influenzabazillus nur ein Begleitbakterium, nicht aber der Erreger der Influenza wäre, hätte nur Sinn, wenn man einen anderen Erreger gefunden hätte, der die Kochschen Forderungen voll oder zum mindesten noch besser als der Influenzabazillus erfüllte. Das ist aber keineswegs der Fall; die als Erreger angesprochenen anderen Bakterien sind absolut nicht einheitlich; was die filtrierbaren Virusarten betrifft, so steht den einzelnen Angaben über Züchtung aus dem Blut und den spärlichen bisher bekannten, nicht eindeutigen Versuchen eine weit größere Reihe negativer Menschenversuche entgegen.

Nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse spricht das ganze Material für die Lehre Richard Pfeiffers vom Influenzabazillus als dem Erreger der pandemischen Influenza.

### **Zusammenfassung.**

1) Die jetzige Grippepandemie ist, unabhängig von etwaigen latenten Infektionsquellen in der hiesigen Bevölkerung, von außerhalb Europas eingeschleppt worden.

2) Das Vorkommen der Influenzabazillen zeigt eine weitgehende Uebereinstimmung mit dem Verlauf der Seuche.

3) Bei Grippekranken wurden die Influenzabazillen in 187 Fällen = 65,62 Proz. nachgewiesen. (Im Leichenmaterial in 57,14 Proz., im Sputum in 76,25 Proz., in Rachenabstrichen in 52 Proz.)

**Bei Verarbeitung des Materials am Krankenbett fanden sich die Influenzabazillen in Rachenabstrichen in 91,11 Proz.**

Bei Umgebungsuntersuchungen fanden sie sich bei Erkrankungen der Atmungsorgane im Sputum 35mal = 8,81 Proz., im Rachen 3mal = 7,7 Proz.; bei Gesunden 2mal = 3,2 Proz. (beide positiven erkrankten 2 Tage später an Grippel), zusammen bei 498 Umgebungsuntersuchungen 40mal = 8,03 Proz.

4) Die Untersuchungsmethodik ist bei der Influenza von grundlegender Wichtigkeit zur Erzielung guter Resultate. (Verarbeitung des Materials am Krankenbett, Verwendung des Taubenblutagars.)

5) An der ätiologischen Bedeutung der Influenzabazillen für die pandemische Grippe ist nach wie vor festzuhalten.

Abgeschlossen Ende März 1920.

#### Literaturnachweis

Abrahams, Hallows, Eyre in French, Lancet. 8. Sept. 1917. — v. Angerer, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 46. — Benda, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 31. — v. Bergmann, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Bernhard, Med. Klin. 1918. Nr. 28. — Besançon, Bull. de l'Acad. de méd. 1919. Nr. 2. — Binder u. Prell, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 50 u. 52. — Bradford, Bashford and Wilson, Brit. med. Journ. 17. Mai 1919. — Deussling, Med. Klin. 1918. Nr. 39. — Dietrich, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Dujarric de la Rivière, Compt. rend. Acad. des sc. 21. Oct. 1918. — Friedberger u. Konitzer, Med. Klin. 1919. Nr. 5. — Friedemann, U., Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 29. — Fromme, ebendas. 1918. Nr. 51. — Galli-Valerio, Rev. méd. de la Suisse. Rom. T. 39. Nr. 1 u. 6. — Gibson, Bowman and Conner, Brit. med. Journ. Oct. 1918. — Gotschlich, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30. — v. Gruber, ebendas. 1918. Nr. 28. — Hammond, Rolland and Shore, Lancet. 14. Juli 1917. — Hesse, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30. — Hirschbruch, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — van Hoogenhuijze, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. H. 2. — Hösslin, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 41. — Klemperer, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Kolle, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 29. — Köppchen, ebendas. 1918. Nr. 34. — Korbsch, Med. Klin. 1918. S. 1092. 1919. S. 70. — Kossel, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 32. — Kraus, R., u. Kantor, Rev. del Instit. bact. Buenos Ayres. T. 2. 1919. H. 1. — Kretz, Wien. klin. Wochenschr. 1897. — Kruse, München. med. Wochenschr. 1918. S. 1228. — Leichtenritt, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 51. — Leishman, Brit. med. Journ. 26. Oct. 1918. — Leitner, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 43. — Leschke, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 1176. — Levinthal, ebendas. 1918. Nr. 30. — Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. — Löwenthal, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 11. — Lubarsch, Ver. Berlin. ärztl. Ges. 17. Juli 1918. — Mendelbaum, München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 30. — Meyer u. Bernhard, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 33 u. 34. — Miheli e Satta, Arch. p. le sc. med. T. 42. 1918; Nr. 1, 2 (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 69. S. 305). — Nestlinger, Mitt. a. d. Budapest. Augenklin. 1918. — Netter, Bull. de l'Acad. de méd. 1918. Nr. 39. — Neufeld u. Papamarku, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 44. — Dies., Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 1. — Nicolle et Lebailly, Presse méd. Oct. 1918. — Olsen, München. med. Wochenschr. 1919. S. 236. — Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. — Ders., Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 28. — de Salazar, Bull. de l'Office intern. d'hyg. publ. 1918. Nr. 8. — Scheller, Influenza. (Kolle-Wassermann.) — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. — Schemensky, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 557. — Schiemann, Med. Klin. 1918. Nr. 39. — Schmorl, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Schöppler, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 32. — Schottmüller, Deutsch. med. Wochenschrift. 1919. Nr. 29. — Schürmann, ebendas. 1918. Nr. 30. — Selter, ebendas. 1918. Nr. 34. — Simmonds, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 32. — Sobernheim u. Novaković, ebendas. 1918. Nr. 49. — Uhlenhuth, Deutsch. med. Wochenschrift. 1918. Nr. 28. — Ders., Med. Klin. 1918. Nr. 32.

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen über Wunddiphtherie.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstelle (Leiter: Prof. Dr. Prausnitz) des Hygienischen Institutes der Universität Breslau (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von Dr. Herbert Lubinski, Assistent.

Die bedeutungsvollen Veröffentlichungen von Kißkalt und Anschütz in Kiel und Weinert in Magdeburg haben, wie in vielen anderen Städten, so auch in Breslau zu einem genaueren Studium der Frage des Vorkommens von Diphtheriebazillen in Wunden aller Art geführt. Ueber die ersten positiven Diphtherieergebnisse berichtete hier Küttner. Seine Befunde waren jedoch zunächst vorwiegend aufgebaut auf der bei der einfachen Diphtheriediagnose üblichen bakteriologischen Untersuchung der ersten Serummischkulturen. Es mußte jedoch erwünscht sein, eingehendere Untersuchungen der einzelnen Fälle mit Isolierung und Prüfung der Reinkulturen der verdächtigen Stäbchen auszuführen. Auf Veranlassung von Herrn Geh. Rat Küttner war zunächst eine gemeinsame Bearbeitung der in der chirurgischen Universitätsklinik vorkommenden Fälle durch die genannte Klinik und das Hygienische Institut geplant. Jedoch veranlaßte uns das bald aus fast allen chirurgischen Stationen Breslaus zahlreiche eingehende Untersuchungsmaterial, über den ursprünglich gedachten Rahmen hinauszugehen und die gesamten von uns erhobenen Befunde in einer rein bakteriologischen Arbeit zu verwerten.

Das Studium der in neuerer Zeit veröffentlichten Literatur zeigt, daß die gefundenen Ergebnisse ebenso stark voneinander abweichen, wie die Meinungen der Autoren über die Bedeutung der ganzen Frage geteilt sind. Einigkeit besteht wohl nur darin, daß die Mehrzahl der beschriebenen Fälle nicht dem Bilde der früher unter dem Namen der Wunddiphtherie bekannten chirurgischen Komplikation entspricht.

Virchow hat die pseudomembranöse Entzündung aller Schleimhäute als diphtherisch bezeichnet, wenn sie mit Nekrose der Gewebe einhergeht. Dementsprechend bezeichnete man als diphtherisch infiziert diejenigen Wunden, bei denen häutige Beläge unter entzündlichen Erscheinungen auftraten, welche zu nekrotischem Gewebszerfall führten. Diese rein pathologisch-anatomische Erklärung blieb aber schon in der vorbakteriellen Zeit nicht unwidersprochen. Von rein klinischen Gesichtspunkten ausgehend, kam Roser auf Grund vergleichender Studien über die Bildung von Belägen bei Rachen- und Wunddiphtherie zu der Erkenntnis, daß die Entstehung von Pseudomembranen auf Wunden recht verschiedene Ursachen haben könne, daß also nicht jede Wunde mit einem weißlich-grauen, von der Unterlage nur blutig zu lösendem Belag als diphtherisch zu bezeichnen sei. Die Richtigkeit dieser Anschauung wurde erwiesen, als Klebs und Loeffler in dem Diphtheriebazillus den Erreger der genuinen Rachen-diphtherie nachweisen konnten. Durch diese Entdeckung war es möglich, den Begriff der Wunddiphtherie exakt zu definieren, wie es Billroth und Winiwarther 1889 als erste getan haben:

„Die Wunddiphtherie repräsentiert eine diphtherische Entzündung, welche sich auf einer frischen oder granulierenden Wunde entwickelt infolge Uebertragung des Contagiums der echten Schleimhautdiphtherie. Als infektiöse Wunddiphtherie kann man deswegen nur jene Prozesse bezeichnen, die durch den Klebs-Loefflerschen Bazillus hervorgerufen werden. Die Wunddiphtherie pflanzt sich entweder direkt von der Schleimhaut auf die Wunde fort, z. B. bei Tracheotomien, oder sie wird von einem

mit Diphtherie befallenen Individuum auf andere Patienten mit Wunden und granulierenden Flächen aller Art, jedoch niemals auf die gesunde und unverletzte Haut übertragen.“

Merkwürdigerweise vergingen mehrere Jahre, bis man daran ging, die Angaben Billroths nachzuprüfen. Als erster hat C. Brunner systematisch alle zu seiner Beobachtung kommenden Fälle auf das Vorhandensein von Diphtheriebazillen untersucht. Er konnte sie bei einem Material von über 100 Wunden nur 3mal isolieren, und zwar handelte es sich bei 2 Wunden um solche, welche auch klinisch durch das Vorhandensein einer Pseudomembran das Bild der Wunddiphtherie zeigten. Der 3. Fall war klinisch nicht diphtherieverdächtig. Andererseits konnte Brunner feststellen, daß viele Wunden ein diphtherisches Aussehen hatten, ohne daß die Erreger der Diphtherie nachzuweisen waren. Dieser 1. Veröffentlichung folgten bald zahlreiche andere. Immer jedoch handelte es sich um vereinzelte Erscheinungen; ein gehäuftes Auftreten wurde nirgends beobachtet. Ueber die bis zum Jahre 1913 veröffentlichten Arbeiten hat Zülig in seiner Monographie „Wunddiphtherie und Wunddiphtheroid“ zusammenfassend berichtet. Sie haben alle, mit drei Ausnahmen, von denen noch zu sprechen sein wird, die Brunnerschen Befunde bestätigt und erhärtet.

Ueber die bakteriologische Diagnosestellung aller dieser Untersucher bemerkt Zülig folgendes: der Nachweis der Diphtheriebazillen erfolgte mit Hilfe des Mikroskopes und des Kulturverfahrens, in den meisten Fällen auch durch den Tierversuch.

Wie schon gesagt, fallen drei Arbeiten, die von Thorn, Sudek und Pawlowski, aus dem Rahmen der eben im Zusammenhang abgehandelten Veröffentlichungen heraus. Bei allen dreien handelt es sich wahrscheinlich, obwohl ihre Angaben nicht ganz übereinstimmen, um dieselben Bakterien: unbewegliche, kurze, plumpe Stäbchen, die sehr häufig in V-Form und in Palissadenanordnung gelagert sind und auf den meisten Nährböden üppig gedeihen, bei Neisser-Färbung keine Polkörperchen zeigen; für Menschen, Meerschweinchen und Mäuse sind sie nicht pathogen. Allein Anschein nach handelte es sich um Bakterien, die zur Klasse der Diphtheroiden zu rechnen sind.

Während des Krieges wurden wenig Beobachtungen über Wunddiphtherie veröffentlicht. Erst nach Friedensschluß berichteten fast gleichzeitig Kibkalt und Anschütz aus Kiel und Weinert aus Magdeburg über gehäuftes Auftreten von diphtherisch infizierten Wunden auf ihren Stationen. Die beiden ersteren wurden durch drei schwere Fälle aufmerksam und fanden bei systematischer bakteriologischer Durchuntersuchung ihres Materials bei 90 stationären Fällen 15mal = 16 Proz. und bei 61 poliklinischen 12mal = 19 Proz. Diphtheriebazillen. Das klinische Bild zeigte verschiedene Formen. Es werden unterschieden: ulzerierende, phlegmonöse, pseudomembranöse, leicht belegte und klinisch unverdächtige Formen. Das Allgemeinbefinden der Patienten war, außer bei den erstgenannten beiden, selten vorkommenden Formen, wenig oder gar nicht gestört; nur die Heilung der Wunden wurde anscheinend verzögert.

Die von Kibkalt als Diphtherie angesprochenen Stämme waren virulent. Außer solchen hat er aber auch diphtherieähnliche, wahrscheinlich Pseudodiphtherie, in manchen Wunden gefunden, ferner einige nichtvirulente Stämme, die Traubenzucker säuerten. Es bleibe dahingestellt, ob diese letzteren nicht mit den von mir als Paradiphtherie bezeichneten Stämmen identisch sind.

Zu noch auffälligeren Ergebnissen als die Vorgenannten kam Weinert auf Grund seiner in Magdeburg angestellten Erhebungen. Von 197 bakteriologischen Wunduntersuchungen waren 286 = 58,6 Proz. positiv. Anscheinend — genauere Angaben darüber fehlen leider — handelte es sich ausschließlich um stationär behandelte Fälle. Der klinische Befund war ungefähr der gleiche wie in Kiel. Besonders hervorzuheben wäre, daß auch eine Anzahl aseptisch Operierter mit Diphtherie infiziert war und 6 Personen des Pflegepersonals an Rachendiphtherie erkrankten.

Danach ist sicher eine Anzahl von Fällen echte Diphtherie gewesen. Ob das aber für alle zutrifft, erscheint bei kritischer Beurteilung der von Nieter geschilderten bakteriologischen Untersuchungsmethoden zweifelhaft.

Nieter sagt: „Als positiv wurde die Diagnose bezeichnet, wenn die charakteristischen Stäbchen in typischer Lagerung mit Neisser-Körnchen nach 12–24-stünd. Bebrütung sich vorfanden. Die diphtherieähnlichen Bazillen zeigten nach diesem Zeitraum noch keine Körnchenfärbung.“

Wir haben bei unseren Untersuchungen feststellen müssen, daß auf diese Angaben hin eine entscheidende Diagnose nicht möglich ist. Wohl kann man die allen bekannte schlanke, leicht gekrümmte, deutlich Neisser-Färbung zeigende, kurz die typische Diphtherie daran erkennen, jedoch all die anderen Formen der so variablen Loeffler-Bazillen von den ebenso variablen diphtherieähnlichen nur auf Grund des mikroskopischen Bildes zu unterscheiden, das haben wir, nachdem wir bei den ersten Untersuchungen trübe Erfahrungen gesammelt haben, bald aufgegeben. Leider hat Nieter nur 8 von seinen 286 Fällen auf Virulenz geprüft. Im übrigen beschränkte

er sich (und auch das geschah nur bei einem Teil der Fälle) auf die Beobachtung des Wachstums in Serum, Agar, Gelatine, Bouillon und der Säurebildung auf Thielschen Nährböden (Pepton, Nutrose, Traubenzucker ana 1,0, NaCl 0,5, Lackmuslösung Kahlbaum 0,5, Aqua dest. 100). Da nach unseren Untersuchungen die Traubenzuckervergärung keine zuverlässige Unterscheidung zwischen echter Diphtherie und diphtherieähnlichen Stämmen erlaubt, sind demnach von den 281 angeblich positiven Befunden nur die 8 als virulent festgestellten Fälle beweisend.

Hock, der in Würzburg nach Wunddiphtherie fahndete, fand bei 38 in Betracht kommenden Pat. 5 = 13,7 Proz., die mit Diphtheriebazillen behaftet waren. Ueber die bakteriologischen Untersuchungsmethoden wird nichts gesagt.

Laewen und Reinhardt berichten über Wunddiphtheriefunde in Leipzig: 128 von 224, d. h. 57,1 Proz. der untersuchten Fälle waren positiv, ein ähnlich hoher Prozentsatz, wie ihn Weinert angibt. Außerdem fanden sie in 7 von 47 dieser positiven Fälle Diphtheriebazillen auch auf der gesunden Haut entfernterer Körperteile.

Als Diphtherie wurden nur solche Stäbchen bezeichnet, die grampositiv waren, deutliche Neisser-Färbung, typische Formen und typische Lagerung zeigten. Zur weiteren Feststellung, ob echte Diphtheriebazillen oder nur diphtherieähnliche vorhanden waren, diente der mit den Reinkulturen angestellte Tierversuch und das kulturelle Verhalten:

In Bouillon zeigten die Diphtheriebazillen krümeliges Wachstum unter Klärung der Nährflüssigkeit, in hoher Agar- und Traubenzuckeragarstichkultur Wachstum bis in die Tiefe des Stiches. Beides haben wir auch bei Diphtheroiden beobachtet. Das Hauptgewicht legte Reinhardt auf die Säurebildung in Bouillon, die er für eine charakteristische Eigenschaft der Diphtheriebazillen hält. Demgegenüber hat schon Lubenau darauf hingewiesen, daß in zuckerhaltiger Bouillon echte Diphtheriebazillen ebenso wie diphtherieähnliche Säure bilden, unabhängig von der Ausgangsreaktion der Bouillon. Tierversuche wurden nur mit 25 Stämmen ausgeführt, von denen 23 in mehr oder minder starkem Grade toxisch waren. 4 der pathogenen Stämme wurden auch noch zusammen mit Antitoxin verimpft, wobei keine Reaktion zu bemerken war.

Für Diphtherie charakteristische Veränderungen fanden sich in den meisten der untersuchten Wunden nicht. Die Heilung war nicht verzögert.

Ueber Beobachtungen in Rostock berichten Dönges und Ehlfeld: Sie fanden bei 87 stationären Fällen 19 = 21,8 Proz. und bei 9 poliklinischen 2 = 22,2 Proz. mit Diphtheriebazillen infiziert. Auch hier wurde nur in 6 Fällen der Tierversuch angestellt, der 2mal positiv verlief. Im übrigen erfolgte die Differenzierung nach ähnlichen Gesichtspunkten wie bei Nieter, kann also nicht als beweisend angesehen werden.

Zu völlig von den anderen abweichenden Ergebnissen kommt Kehl in Marburg. Bei 60 Untersuchungen fand er überhaupt nur 1mal verdächtige Stäbchen, deren weitere Prüfung ergab, daß es sich um einen diphtheroiden Stamm handelte.

Kehl hält es für erforderlich, die Diagnose der Wunddiphtherie von einem positiven Ausfall des Tierversuches abhängig zu machen. Bei Erfüllung dieser Forderung dürfte aber, wie später ausgeführt werden soll, eine ganze Reihe echter Wunddiphtherie unerkant bleiben.

Besonders interessante Angaben macht Harms (Hannover). Er beobachtete im Verlaufe eines Jahres 8 diphtherische Wundinfektionen. Alle 8 Fälle zeigten einen plötzlichen Temperaturanstieg unter Verschlechterung des Allgemeinbefindens, während die bis dahin frischen Wunden einen grau-weißlichen bis grau-grünen Belag aufwiesen. Es ist leider aus der Arbeit nicht zu erschen, ob nur die diesen Befund aufweisenden Wunden bakteriologisch auf Diphtherie untersucht wurden, oder ob systematisch durchuntersucht worden ist.

Auf die zahlreichen kleineren, noch weiter erschienenen Arbeiten über Wunddiphtherie wie auch über Haut- und Nabeldiphtherie, die ja ein fast ganz gleiches Gebiet betreffen wie das vorliegende, ausführlich einzugehen, verbietet mir der Raum-mangel. Es sei hier nur auf sie verwiesen.

### Eigene Untersuchungen.

Es war von vornherein klar, daß bei einer so schwierigen Frage wie der vorliegenden alle verfügbaren diagnostischen Hilfsmittel heranzuziehen waren. Deshalb wurde in jedem Falle, in dem sich verdächtige Bazillen fanden, der Versuch gemacht, diese zu isolieren, und jede Reinkultur wurde planmäßig auf ihr Verhalten gegen 8 verschiedene Kohlehydrate und auf ihre Fähigkeit geprüft, Diphtherietoxin zu bilden. Nur so kann man hoffen, einwandfreie und vergleichbare Resultate zu er-

zielen. Es hat sich nun bei diesen Untersuchungen ergeben, daß nur ein kleiner Teil der zunächst verdächtig aussehenden Stäbchen echte Diphtherie war (18 von 59 verdächtigen Stämmen). Viel öfter (41mal) kam ein diphtheroider Bazillus vor, der in einigen seiner Eigenschaften der echten Diphtherie, in anderen der Pseudodiphtherie ähnelt. Da er eine sehr feste Gruppierung seiner Arteigenschaften besitzt, so halte ich es für richtig, ihn als eine neue Art oder wenigstens Abart der diphtherieähnlichen Bazillen anzusprechen. Ich bezeichne ihn als

#### Paradiphtheriebazillus.

Die bei unseren Untersuchungen angewandte Technik war folgende: Das mit den gewöhnlichen Diphtherie-Entnahmeapparaten uns übersandte Material wurde zunächst auf 2 sterile Objektträger ausgestrichen, die nach Gram und mit Loefflers Methylenblau gefärbt wurden. Es geschah dies, um das Verhältnis der im Original vorhandenen zu den auf der Kultur sich entwickelnden Bakterien festzustellen. Sodann wurde, um möglichst schnell einzelne Kolonien zu erhalten, beim Beschicken des gewöhnlichen Loefflerschen Serumnährbodens nur ungefähr der 4. Teil der Platte mit dem Tupfer bestrichen und von dieser Stelle aus mit der Platinöse eine große Zahl von Verdünnungsstrichen über den Rest der Platte gezogen. Auf diese Weise gelang es, in den weitaus meisten Fällen schon bei der ersten Untersuchung isolierte Kolonien zu gewinnen. Glückte dies nicht, so wurde etwas Kulturmateriel in physiol. Kochsalzlösung verrieben und in ähnlicher Weise, wie oben angegeben, mit 1 Oese Aufschwemmung eine Verdünnungsplatte angelegt. Dadurch gelang bei den noch übrigen Fällen spätestens nach 48 Std. die Isolierung der verdächtigen Kolonien; nur in 12 Fällen konnte infolge starker Ueberwucherung mit peptonisierenden Bazillen, wie *Proteus*, *Pyocyaneus* u. a., nicht isoliert werden.

In den meisten Fällen konnten die paradiphtherischen Stäbchen von der echten Diphtherie schon in den von der Schmierplatte angelegten Präparaten allein durch das mikroskopische Bild wohl abgegrenzt werden; doch kamen bei beiden Arten auch Formen vor, die eine sichere mikroskopische Unterscheidung nicht zuließen. Mit der Pseudodiphtherie hatten die Paradiphtheriebazillen meist große Aehnlichkeit, jedoch zeigten sie, im Gegensatz zu ihr, meist schon nach 18-stünd. Bebrütung deutliche, wenn auch kleine Neisser-Körnchen.

Im allgemeinen handelt es sich um Stäbchen, die im Verhältnis zur echten Diphtherie ziemlich kurz und plump sind. Sie zeigen abgerundete Ecken, sind unbeweglich und zuweilen leicht gekrümmt. Sehr häufig findet man knopfartige Anschwellungen an einem oder beiden Enden. Die Stäbchen sind mit allen Anilinfarben und auch nach Gram leicht zu färben.

Bei der Doppelfärbung nach Neisser finden sich in der Mehrzahl der Individuen kleinere, aber deutlich schwarzblaue Körnchen an einem oder beiden Enden, selten in der Mitte.

Was die Lagerung der Bazillen angeht, so liegen sie nicht wie echte Diphtherie wirr umher, das charakteristische Bild der chinesischen Schriftzeichen bildend, sie machen vielmehr einen bedeutend geordneteren Eindruck. Es besteht eher eine Neigung zur Zusammenballung, die sich in sehr häufigem Auftreten der Palissadenanordnung kundgibt. Weniger oft sieht man die V-Form. Kettenbildung wurde nie beobachtet, kaum daß je 2 Stäbchen hintereinander liegen. ...

Die Kolonien zeigen auf Loeffler-Serum ein üppiges, fettes Wachstum. Ihre Größe ist wechselnd, von der eines Grieskornes bis zu der einer Stecknadelkuppe. Die Farbe der Kolonien ist weißlich glänzend, ihre Form halbkugelig, der Rand scharf und glatt. Es besteht eine starke Neigung der einzelnen Kolonien zu konfluieren. Bei Lupenbetrachtung weisen die Kolonien ein glasiges Aussehen auf.

Auffällig ist die Schnelligkeit, mit der die Bazillen degenerieren: bisweilen schon nach 24 Std., fast immer und viel intensiver nach 48-stünd. Bebrütung der Serumplatten sieht man, daß ein Teil der Stäbchen in seinem Längenwachstum erheblich nachgelassen hat. Man könnte fast glauben, kokkenartige Gebilde vor sich zu haben; Involutionsformen, wie bei echter Diphtherie, finden sich beim Wachstum auf Serum nicht. Anders hingegen verhält es sich bei Züchtung auf 2½-proz. Nähragar. Darauf wachsen die Kolonien besser und üppiger als echte Diphtherie. Die einzelnen Stäbchen werden länger als auf Serum. Es erscheinen auch innerhalb der ersten 24 Std. keulenartig angeschwollene Gebilde, die den Involutionsformen der Diphtherie sehr ähnlich sehen, aber merkwürdigerweise ziemlich rasch verschwinden. Schon am 2. Tage sieht man fast nur noch die regulären Formen. Es macht den Eindruck, als ob die Bazillen sich unterdessen an den ihnen anfangs weniger zusagenden Nährboden gewöhnt hätten. Die Neisserschen Polkörnchen treten bei Züchtung auf Agar nicht auf, eine Erscheinung, die wir unter diesen Umständen aber auch bei echter Diphtherie beobachtet haben.

Als für die Sicherstellung der Diagnose wichtigster Befund ergab sich die Fähigkeit der Paradiphtheriebazillen, andere Kohlehydrate zu vergären als die Diphtheriebazillen. Bekanntlich vergären diese eine Reihe von Kohlehydraten unter lebhafter Säurebildung. Von Wichtigkeit ist hierbei die Ausnahmestellung, welche die Saccharose einnimmt. Diese wird von echten Diphtheriebazillen nicht angegriffen.

Zahlreiche Autoren geben dies, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, übereinstimmend an.

Tabelle I.  
Säurebildung durch Diphtheriebazillen in:

Autor	Glukose	Galaktose	Lävulose	Sacchar.	Laktose	Maltose	Mannit
Theobald Smith	.	.	.	—	—	.	.
Knapp	+	.	.	—	—	+	+
Graham Smith	+	+	+	—	+	+	—
Kulikoff	+	.	+	.	+	.	—
Neisser u. Gins	+	.	+	—	—	.	.

+: Säurebildung, —: keine Säurebildung, .: nicht geprüft.

Wir haben zu unseren Versuchen eine Stammlösung benützt, bestehend aus 1 Proz. Pepton, ½ Proz. NaCl, Aqua dest. ad 100. Zu dieser wurden 6 ccm Lackmuslösung (Kubel-Tiemann) hinzugefügt, in der je nachdem 1 g der verschiedenen Kohlehydrate durch 5 Min. laugos Kochen gelöst war.

Auch in der vorliegenden Untersuchung hat keiner der 11 toxischen und keiner der 5 zwar atoxischen, aber morphologisch absolut typischen Diphtheriestämme die Saccharose angegriffen, selbst nicht bei 10-täg. Bebrütung. Dahingegen haben alle 41 Paradiphtheriestämme die Saccharose in den meisten Fällen schon nach 24 Std., spätestens aber nach 2 Tagen, gesäuert. Nachstehende Tabelle zeigt das verschiedene Ver-

halten von Diphtherie, Paradiphtherie und Pseudodiphtherie gegenüber den von mir geprüften Kohlehydraten nach 48-stünd. Bebrütung:

Tabelle II.  
Säurebildung nach 48 Stunden.

	Dextrin	Galakt.	Glukose	Glyzerin	Laktose	Lävulose	Mannose	Sacchar.
Diphtheriebaz. (18 Stämme)	—	+	+	—	—	+	+	—
Paradiphtheriebz. (41 Stämme)	—	+	+	—	—	+	+	+
Pseudodiphtherie- baz. (5 Stämme)	—	—	—	—	—	—	—	—

Dieses Verhalten änderte sich in keiner Beziehung bei Para- und Pseudodiphtherie, auch nicht nach 10-tägiger Bebrütung. Anders verhielt sich in diesem Zeitraum die echte Diphtherie (10 Stämme), worüber Tab. III Aufschluß gibt.

Tabelle III.

	Dextrin	Galaktose	Glukose	Glyzerin	Laktose	Lävulose	Mannose	Sacchar.
1. Tag	—	+	+	—	—	+	+	—
2. "	—	+	+	—	—	+	+	—
3. "	—	+	+	—	—	+	+	—
4. "	—	+	+	—	—	+	+	—
5. "	—	+	+	+	—	+	+	—
6. "	—	+	+	+	—	+	+	—
7. "	—	+	+	+	—	+	+	—
8. "	—	+	+	+	—	+	+	—
9. "	—	+	+	+	—	+	+	—
10. "	—	+	+	+	—	+	+	—

Während dieser Zeit ist es der Diphtherie gelungen, auch aus Glyzerin Säure abzuspalten. Alles andere aber, vor allem die Saccharose, blieb auch in diesem Zeitraum unverändert.

Es ergibt sich also als charakteristischer Unterschied zwischen echter und Paradiphtherie das Vermögen der letzteren, Saccharose zu vergären.

Nachdem so eine grundlegende Charakterisierung der Paradiphtheriebazillen möglich geworden war, wurde nunmehr ihr Verhalten auf verschiedenen gebräuchlichen Nährböden mit dem der echten und der Pseudodiphtherie verglichen. Es hat sich dabei vorwiegend herausgestellt, daß die Paradiphtherie, ähnlich wie die Pseudodiphtherie, weit rascher und üppiger gedeiht als die echte Diphtherie, was man vielleicht mit einer geringeren parasitären und höheren saprophytischen Begabung erklären könnte.

Das geschilderte Verhalten war der Fall auf Agar, stark alkalischem Agar, Endoagar und Blutagar, auf dem alle drei Arten mit manchen Stämmen kräftige Hämolyse zeigten.

Auch bei Tiefenwachstum in Stichkulturen von Agar, Traubenzuckeragar und Gelatine fand sich kein Unterschied zwischen den drei Arten; Gelatine wurde von keiner verflüssigt.

Gasbildung wurde ebensowenig wie Indol- und Schwefelwasserstoffbildung beobachtet.

Es wurde von uns Gewicht darauf gelegt, jede isolierte Kultur auch



im Tierversuch zu prüfen. Wir hatten für diesen Zweck die Wahl zwischen der Injektion frischer, lebender Bakterien und der Prüfung 8–10 Tage alter, abgetöteter Bouillonkulturen. Die letztere Methode bietet außer dem sparsamen Verbrauch an Tieren noch den Vorteil, daß sie, auf der Anwesenheit echter Toxine beruhend, für diese beweisend ist. Die Toxine aber und ihre Neutralisation durch Diphtherieantitoxin sind ein wichtiges Kennzeichen der Diphtheriebazillen. Wir haben daher diese Methode durchgängig angewandt. Die 10–14 Tage bei 37° bebrüteten Bouillonkulturen wurden mit Chloroform abgetötet und 24 Std. im Eisschrank gehalten, wobei fast völlige Klärung eintrat. Von der überstehenden Flüssigkeit wurden 0,05 ccm einem mit Strontium sulfuratum enthaarten Meerschwein streng intrakutan am Bauch eingespritzt. Auf diese Weise konnten bis zu acht verschiedene Stämme an einem Tier geprüft werden.

In positiven Fällen trat nach 48–72 Std. an der Impfstelle ein mehr oder weniger stark gerötetes Infiltrat auf, das immer stärker wurde und nach 5–6 Tagen in Nekrose überging. Nur diese Fälle wurden als für Meerschweinchen toxisch bezeichnet. Von den toxischen Kulturen wurden dann wieder 0,05 ccm einem anderen mit Diphtherieantitoxin vorbehandelten Tiere eingespritzt. Hier blieb jedesmal auch die leiseste Reaktion aus.

Um die Zuverlässigkeit der Intrakutanmethode zu kontrollieren, haben wir auch 2-tägige lebende Bouillonkulturen anderen Meerschweinchen subkutan verimpft. Bei vier durch die Intrakutanmethode als toxisch festgestellten Stämmen ergab sich hier der typische Krankheitsverlauf und Sektionsbefund. Drei Paradiphtheriestämme, die bei der intrakutanen Impfung negativ reagiert hatten, erwiesen sich auch subkutan als nicht pathogen.

Die von uns angewandte Intrakutanmethode beruht, wie schon gesagt, auf der Anwesenheit von echten Toxinen, deren Produktion aber unter verschiedenen Umständen sehr gering oder auch ganz aufgehoben sein kann. Wir haben es dann mit atoxischen Stämmen zu tun, die wir aber als echte Diphtherie ansprechen müssen, wenn sie die zahlreichen anderen charakteristischen Eigenschaften mit den Toxinbildnern gemein haben.

Anders aber verhält es sich mit den Saccharose säuernden Paradiphtheriestäbchen. Die mit ihnen angestellten Intrakutanversuche fielen sämtlich negativ aus. Wir müssen daher annehmen, daß sie nicht in der Lage sind, die für Meerschweinchen wirksamen Toxine zu bilden, wie es die echte Diphtherie tut.

Es wäre nun denkbar, daß die Paradiphtherie vielleicht ein für andere Tiere wirksames Gift bilden könnte. Daher wurden abgetötete, 10-tägige Bouillonkulturen von zwei Paradiphtheriestämmen an Mäuse verimpft, die für Diphtheriebazillen bekanntlich unempfindlich sind. Auch hier erfolgte keine Reaktion.

Endlich wurden je 0,05 ccm dieser Kulturen intrakutan an Menschen verimpft mit dem gleichen negativen Erfolg.

Damit ist erwiesen, daß die Paradiphtheriebazillen kein Diphtherietoxin bilden, und ihre völlige Atoxizität ist sehr wahrscheinlich gemacht. Offen jedoch ist noch die Frage der Pathogenität überhaupt. Zu deren Prüfung haben wir noch eine Reihe weiterer Versuche mit lebenden Kulturen gemacht. Die subkutane und intraperitoneale Einverleibung

von  $\frac{1}{2}$  ccm lebender, 2-tägiger Bouillonkultur hatte für Meerschweinchen und Mäuse keinerlei schädliche Folgen.

Weiterhin versuchten wir, künstlich eine Wunddiphtherie an Meerschweinchen zu erzeugen. Zu diesem Zweck wurden die enthaarten, unteren Rückenhälften von fünf gleichgroßen, weißen Tieren mit Schmirgelpapier bis zur Exkoration abgerieben. In die so gebildeten Wundflächen wurden mit einem Tupfer die im Kondenswasser der Loefflerschen Serumröhrchen aufgeschwemmten Kulturmassen eine Minute lang kräftig eingerieben; zwei Tiere wurden so mit Diphtherie, zwei mit Paradiphtherie und eins mit steriler 0,8-proz. Kochsalzlösung behandelt.

Die mit Paradiphtherie beimpften Tiere zeigten, ebenso wie das Kontrolltier, nach 24 Std. eine deutliche Schwellung und Rötung, die am zweiten Tage schon zurückging und am dritten fast völlig geschwunden war. Als Folge der Substanzverluste blieben nur einige kleine Krusten mit völlig reizloser Umgebung, die innerhalb der nächsten drei Tage abheilten. Das Allgemeinbefinden der Tiere war während der ganzen Zeit völlig ungestört.

Ganz anders war der Verlauf bei den mit Diphtherie behandelten Tieren. Nur am ersten Tage nach der Impfung zeigte sich dasselbe Bild wie bei den mit Paradiphtherie beimpften: deutliche Schwellung und Rötung. In den folgenden Tagen trat eine mächtige Entzündung und Nekrose ein, die bei einem Tier zum Tode führte. Näheres ergibt das Protokoll.

#### Meerschwein M 25.

3. Tag: Die geriebene Fläche, die einen Durchm. von etwa 5 cm hat, zeigt einen lividen Grundton (etwa giemsafarben). In diesem Felde findet sich eine große Zahl von braunroten, harten Krusten; die ganze Haut ist stark infiltriert, ödematös, etwas wärmer als die Umgebung und scheint auf Druck stark schmerzhaft zu sein. Das Tier sitzt mit gestäubten Haaren im Käfig, frißt schlecht und macht einen schwerkranken Eindruck.

Es erhält 2 ccm 250-faches Antitoxin subkutan, stirbt aber in der Nacht.

Der Befund an der Wunde ist derselbe wie am vorhergehenden Tage, nur ist der livide Farbton einem roten gewichen.

Sektionsbefund: Mächtiges, sulziges, hämorrhagisches Oedem der Subcutis; Leisten-drüsen bohngroß; starkes Lungenödem und Hämorrhagie der Nebennieren: also typischer Befund für Diphtherie.

#### Meerschwein M 24.

3. Tag: Die untere Hälfte der bestrichenen Hautpartie mit einem Durchm. von etwa 4 cm ist von einem zusammenhängenden, nekrotischen Schorf bedeckt. Auf Druck quillt an einer Stelle etwas trübe Flüssigkeit hervor. Die obere Hälfte ist graugelb verfärbt und weist zahlreiche, bis etwa 5 mm große Flecken auf. Der Rand des Gesamtfeldes ist hellrosarot injiziert. Die Haut ist im ganzen stark infiltriert, deutlich wärmer als die Umgebung und sehr druckschmerzhaft. Das Tier sitzt mit gestäubten Haaren im Käfig, scheint aber weniger krank zu sein als das andere.

4. Tag: Der gleiche Befund; erhält 2 ccm 250-faches Antitoxin subkutan.

5. Tag: Nekrose zeichnet sich ab, Haut ist trocken. Das Tier befindet sich etwas besser.

6. Tag: Die Nekrose geht nicht weiter. Es hat sich ein Schorf gebildet, der scharf abgegrenzt ist. Tier ist munter und frißt gut.

Nach ungefähr 4 Wochen war die Nekrose reaktionslos verheilt.

Durch diese Versuche ist in einwandfreier Weise dargetan, daß die Diphtheriebazillen, auch in geringfügigeren, rein oberflächlichen Wunden sitzend, ihre verderbenbringende Tätigkeit entfalten können. Andererseits erwiesen sich auch hier die Paradiphtheriebazillen als nicht pathogen für Meerschweinchen.

Auf Grund der von uns angestellten Versuche und der uns mitgeteilten klinischen Beobachtungen können wir mithin annehmen, daß die Paradipteriebazillen Saprophyten sind, die in Wunden, auf der Haut wie auch in Rachen und Nase, wo wir sie gelegentlich fanden, vorkommen. Bemerkenswert dürfte ferner die Tatsache sein, daß wir in den uns übersandten Wundabstrichen niemals Pseudodipteriebazillen finden konnten.

Auf die beschriebene Weise haben wir im ganzen die Abstriche von 105 Pat. untersucht. Davon waren 34 einwandfrei negativ. In 12 Fällen fanden wir verdächtige Stäbchen, die wir infolge völliger Ueberwucherung der Kulturen durch *Proteus* usw. nicht isolieren konnten. Sie dürften auf Grund des mikroskopischen Bildes alle den Paradipteriebazillen zuzurechnen sein, sind aber bei der Berechnung außer Betracht geblieben. Reinzüchten konnten wir die Paradipteriebazillen 41mal. Als mit echter Diphtherie infiziert erwiesen sich 18 Fälle, von denen 5 gleichzeitig noch Parabazillen aufwiesen. Als im Tierversuch toxisch zeigten sich 10 von den 18 Stämmen. Der Prozentsatz der positiven Diphtherie war also 17,1.

Trennt man die poliklinischen Einsendungen von denen der Stationen, so ergeben sich folgende Zahlen:

Von 64 Stationsuntersuchungen waren 10 = 15,6 Proz. und von 41 poliklinischen 8 = 19, 5 Proz. diphtheriepositiv. Dieser Prozentsatz dürfte sich noch zugunsten des poliklinischen Materials verschieben, wenn man die bereits infiziert in stationäre Behandlung kommenden Fälle den poliklinischen zurechnen würde.

Betrachten wir unsere Ergebnisse zusammen mit den andernorts erhobenen Befunden, so zeigt es sich, daß ein sehr erheblicher Prozentsatz von Wunden (17,1 Proz.) mit Diphtherie infiziert war. Daß an dieser Erscheinung eine Uebertragung innerhalb des Krankenhauses schuld sein soll, dürfte schon mit Rücksicht auf den heutigen Stand der Asepsis kaum wahrscheinlich sein. Die von uns in der chirurgischen Universitätsklinik angestellten Umgebungsuntersuchungen haben auch, was zu erwarten war, ein negatives Resultat gehabt. Die Aerzte und das Pflegepersonal der in Betracht kommenden Stationen wurden auf das Vorhandensein von Bazillenträgern durchuntersucht. 43 Rachen- und Nasenabstriche ergaben in keinem einzigen Falle ein positives Resultat. Zudem weist auch der höhere Prozentsatz der poliklinischen Fälle auf eine andere Quelle der Infektion hin. Es müssen schon allgemein vorhandene Faktoren eine gewichtige Rolle spielen. Von mancher Seite wird dem in weiten Schichten der Bevölkerung vorhandenen starken Mangel an Wäsche und Seife, der Ueberbelegung an und für sich hygienisch nicht einwandfreier Wohnungen ein Teil der Schuld zugeschoben. So glaubt Kißkalt, die Häufung der von ihm beobachteten Fälle und auch eine gleichzeitig bestehende außerordentliche Verbreitung der Diphtherie in Kiel erklären zu können. Der gleichen Ansicht ist Weinert, der damit die starke Ausbreitung der nach seiner Meinung von Soldaten eingeschleppten und in den Krankenhäusern Magdeburgs fast endemisch aufgetretenen Wunddiphtherie begründen zu können glaubt. Weiter ist in Betracht zu ziehen, daß ein jahrelang unterernährter Körper sich besser zur Brutstätte pathogener Keime eignet als ein im Vollbesitz seiner Abwehrkräfte befindlicher. Nicht zu vergessen ist es auch, daß während des Krieges durch das überaus enge Zusammenpferchen großer Menschenmassen in den militärischen Unter-

künften unter den denkbar ungünstigsten hygienischen Verhältnissen die Diphtherie und damit auch das Bazillenträgertum, wie nachgewiesen ist, eine stärkere und leichtere Verbreitung gefunden hat als früher, und daß sie von da ihren Weg auch unter die zivile Bevölkerung finden konnte.

Alle diese Faktoren würden dafür sprechen, daß wir es mit einer neuartigen Erscheinung als Folge der Schäden der Kriegs- und Nachkriegszeit zu tun hätten.

Wäre diese Annahme richtig, so müßte doch wohl zunächst auch eine Zunahme der Rachen- und Nasendiphtherie zu bemerken sein. Während Kißkalt dies für Kiel feststellen zu können glaubt, kann in Breslau, wie wir auf Grund der statistischen Meldungen ermittelt haben, davon nicht die Rede sein. Auch in anderen Städten ist eine solche Beobachtung nicht gemacht worden. Ferner aber ist zu bedenken, daß es Wunden von gleich torpider Beschaffenheit, wie die jetzt als infiziert erkannten, auch schon früher gegeben hat. Nur ist man wohl nie auf den Gedanken verfallen, sie bakteriologisch auf Diphtherie zu untersuchen, da ja in fast keinem Falle klinisch verdächtige Erscheinungen vorhanden waren. Wir können also wohl annehmen, daß die erst jetzt beobachteten Formen der Wunddiphtherie immer schon bestanden haben, daß man sie aber aus Unkenntnis nicht diagnostiziert hat, eine Anschauung, die von Küttner, Harms u. a. vertreten wird.

Welche Bedeutung ist nun den erhobenen Befunden beizumessen? Eine Reihe von Autoren, an ihrer Spitze Wieting, halten die Bazillen für harmlose Saprophyten, da ja schwerere Schädigungen in der Mehrzahl der Fälle nicht beobachtet worden seien. Dagegen beurteilen andere, die schwere, ja zum Teil tödliche Diphtherietoxikosen bei diphtherieinfizierten Wunden sahen, jede solche Wunde mit Recht als eine ernste Gefahr.

Die Frage der Bedeutsamkeit ist von zwei Gesichtspunkten aus zu beurteilen: erstens einmal vom Standpunkt der Gefährdung des Pat. selbst, zweitens von dem der Umgebung. Was den Pat. selbst angeht, so muß zugegeben werden, daß in der Mehrzahl der Fälle die Infektion, wenn die Wunde endlich einmal verheilt, keine weiteren schädlichen Folgen hinterläßt; es ist doch aber eine ganze Reihe von Fällen in der Literatur bekannt geworden, in denen akute Toxinwirkungen schweren und schwersten Grades beobachtet wurden. Und ob nicht auch manche unerklärte Lähmungserscheinung auf die Wirksamkeit der Toxone einer unerkannt vorübergegangenen Wunddiphtherie zurückzuführen sind, entzieht sich unserer Kenntnis.

Anschütz und Kißkalt berichten von 3 Fällen, bei denen die wunddiphtherische Infektion zum Tode führte. Lexer sah im Laufe eines Jahres 6 schwere Fälle von Wunddiphtherie, darunter 3 tödliche. Schmid verlor einen Pat. durch Herzschwäche infolge einer wunddiphtherischen Intoxikation.

Minder schwere Fälle beobachtete Weinert, der Akkommodations- und Gaumensegellähmungen sah, meist bei Kranken, die keinerlei Rachensymptome aufgewiesen hatten. Endlich schildert Jakobsohn einen Fall von Wunddiphtherie, an den sich eine Rachendiphtherie mit schwerer Gaumensegellähmung anschloß. Es würde zu weit führen, hier alle diesbezüglichen Beobachtungen anzuführen.

Auch wir hatten Gelegenheit, einen so schwer verlaufenden Fall zu beobachten, für dessen Ueberlassung ich Herrn Prof. Dr. Prausnitz zu Dank verpflichtet bin.

Die 26-jähr. Frau W. erkrankte nach der ersten Geburt unter sehr akuten Erscheinungen an rechtsseitiger Mastitis. Schon damals fiel dem Arzt das eigenartige

**Aussehen der Wunde auf:** tiefe, buchtige Höhlen, bedeckt mit nekrotischen Eiterpfropfen. Die Wunde heilte langsam. Einige Wochen später trat die gleiche Erscheinung an der linken Seite auf. Mehrere tiefe Inzisionen wurden gemacht. Die Wundhöhle blieb von zähhaftenden, graugelben, nekrotischen Massen ausgefüllt. 14 Tage nach Beginn der linksseitigen Mastitis wurde folgender Befund erhoben: Ueber und unter der Brustwarze 2 schmierig belegte, buchtig in die Tiefe gehende Schnittwunden: die obere ist kleinhandtellergroß, die untere von der Größe eines Daumens. Die Haut über der ganzen Mamma ist geschwürig, stark entzündet und grau belegt. Die Wunden sezernieren mäßig; es besteht kein Foetor.

Die mikroskopische Untersuchung eines sofort vorgenommenen Abstriches ergibt Kokken, meist in Paaren, zum Teil in Ketten, viel schlanke, grampositive diphtherieverdächtige Stäbchen. Kulturell werden vorwiegend Diphtheriebazillen, mäßig zahlreiche, hämolytische Streptokokken gefunden. Der Urin enthält 1 Prom. Albumen. Die Untersuchung eines Rachenabstriches auf Diphtheriebazillen hat ein negatives Resultat.

Pat. erhält daraufhin erst 4000 und 2 Tage später 10000 IE. Diphtherieantitoxin subkutan. Gleichzeitig werden die Wunden mit flüssigem Diphtherieserum verbunden. 6 Tage nach Beginn der spezifischen Behandlung beginnen die Wunden sich zu reinigen und vom Rande her sich zu epithelisieren. 2 Tage später haben sich die Fisteln geschlossen und die nunmehr noch bestehenden, oberflächlichen Wunden werden mit Trockenserum behandelt, zunächst mit der von der Fabrik gelieferten, körnigen Form. Die groben Serumkörner lösten sich aber im Wundsekret nicht gut, daher wird das Serum vor dem Gebrauch fein pulverisiert.

Dagegen hat sich unter Fortbestehen der Nephritis das Allgemeinbefinden verschlechtert. Der Puls ist unregelmäßig, klein und weich, kaum zu fühlen. Der Eiweißgehalt des Urins zeitweise bis auf 4 Prom. gestiegen. Das Gesicht sieht gedunsen aus, die Lider sind ödematös geschwollen. Unter Kampfer, Digitalis und diätetischer Behandlung gelang es im Laufe einer Woche, die bedrohlichen Erscheinungen zu überwinden. Die Wundheilung machte unterdessen bei Fortsetzung der Trockentherapie gute Fortschritte. Da nur noch wenig Diphtheriebazillen, in der Hauptsache aber Streptokokken nachzuweisen waren, wurde mit Diphtherie- und Streptokokken-Trockenserum weiter verbunden. Nach etwa  $3\frac{1}{2}$  Woche sind die Wunden unter fortschreitender Besserung des Allgemeinbefindens völlig verheilt.

Wir haben es also hier mit einer durch ihre Folgeerscheinungen lebensbedrohenden Diphtherietoxikose zu tun.

Und wer steht nun dafür, daß nicht jeder harmlos verlaufende Fall plötzlich in kürzester Frist zu einer auch klinisch schweren Infektion und Intoxikation ausartet?

Die großen Unterschiede in der klinischen Beobachtung (von der keine spezifische Veränderung aufweisenden Wunde, die glatt und reaktionslos verheilt, bis zu den ulzerierenden, mit schweren, lebensbedrohenden Allgemeinerscheinungen einhergehenden Formen) sind wohl durch verschiedene Umstände zu erklären. Es gehört ja nicht nur die Anwesenheit von Bakterien dazu, um die Infektion herbeizuführen; verschiedene Faktoren müssen zusammenwirken und können eine mehr oder weniger fördernde Rolle spielen: 1) eine wechselnde Virulenz der Bakterien; 2) eine normalerweise vorhandene, verschieden starke, unspezifische Resistenz des Körpers; 3) eine durch Ueberstehen der Krankheit oder künstlich erworbene spezifische Immunität; 4) verschiedene Resorptionsverhältnisse von der Wunde aus, die zu einer mehr oder weniger guten Selbstimmunisierung führen können; 5) mannigfache Begleitbakterien, bei denen an einen hemmenden (*Pyocyaneus*) oder fördernden (Streptokokken) Einfluß gedacht werden könnte.

Alle diese Faktoren sind aber auch für eine und dieselbe Persönlichkeit nicht als feststehend zu betrachten, sondern sind zeitlichen Schwankungen unterworfen, so daß jederzeit, so lange überhaupt Bazillen vorhanden sind, durch Ueberwiegen der bakteriellen Angriffskräfte und Nachlassen des menschlichen Verteidigungsmechanismus eine Erkrankung zum Ausbruch kommen kann. Wie groß die Gefahr in jedem Augen-

blick ist, können wir nicht voraussehen. Sie besteht aber immer, und daher scheint es uns in jedem Falle angebracht, die Serumtherapie anzuwenden, und zwar sowohl intramuskulär wie am Orte der Wunde.

Bei der Schleimhautdiphtherie kommt fast nur die subkutane oder intramuskuläre Serumanwendung in Frage, da auf den Krankheitsherd gebrachtes Serum doch alsbald fortgeschwemmt werden würde. Bei der Diphtherie der Wunden aber ist es naturgemäß ratsamer, das Serum an den Ort zu bringen, wo die Bazillen sitzen; daher empfiehlt sich stets die lokale Serumbehandlung, und zwar, solange tiefe Wundhöhlen vorhanden sind, in Form von Tampons, die mit flüssigem Serum getränkt sind, später mit fein gepulvertem Trockenserum. Eine bakterizide Wirkung des Serums ist sicher erwünscht; aber wir sind geneigt, doch das Hauptgewicht auf die antitoxische Quote zu legen. Denn auch die nekrotisierende Wirkung der Diphtheriebazillen ist nur durch ihre sezernierten Toxine bedingt. Diese also gilt es, möglichst rasch und gründlich dort zu neutralisieren, wo sie gebildet werden. Dadurch schützt man am besten das Gewebe und stützt es im Kampfe gegen die Bazillen.

Da aber in jedem Falle — wie erwähnt — mit der bereits erfolgten Toxinresorption in den Körper zu rechnen ist, muß regelmäßig auch Diphtherieantitoxin subkutan oder besser intramuskulär in ausreichender Dosis gespritzt werden (200 IE. pro 1 kg Körpergewicht). Auf die Anwendung zu kleiner Dosen ist wohl ein Teil der Mißerfolge zurückzuführen, über die manche Autoren berichten.

Andere, die zwar gute Erfolge mit der Serumtherapie gehabt haben, wie Schmid, Weinert und Harms, wollen sie aus Furcht vor Anaphylaxie nur auf die schweren Fälle beschränken. Natürlich muß auf diese Gefahr, die sich gelegentlich einer später infolge Rachendiphtherie notwendig werdenden Serumgabe einstellen könnte, Rücksicht genommen werden. Sie ist aber nach den Erfahrungen des Krieges wohl nicht so groß, wie früher angenommen wurde. (Mehrfach wiederholte Tetanusserum-Injektionen haben unseres Wissens nicht zu einer Häufung von Anaphylaxiefällen geführt.) Wenn frühere Serumbehandlung vorliegt, wird man fraktionierte Injektionen ausführen, das Serum stark verdünnen, sehr langsam injizieren, unbedingt von der intravenösen Einspritzung absehen, vielmehr die subkutane bevorzugen. Damit dürfte wohl die Gefahr der Anaphylaxie auf ein Minimum zurückgeführt werden. Wir selbst hatten in 3 Fällen Gelegenheit, die günstige Wirkung des Serums zu beobachten:

In dem 1. Falle handelte es sich um eine aus unbekannter Aetiologie entstandene, ca. 6 cm tiefe Fistel an der rechten Brust eines jungen Mädchens. Die Wunde zeigte eine sehr schlechte Heilungstendenz, so daß an Tuberkulose gedacht wird. Die Untersuchung eines Abstriches auf Diphtherie ergibt einen positiven Befund. Daraufhin wurde lokal Trockenserum und intramuskulär 8000 IE. Antitoxin auf einmal gegeben. Innerhalb 8 Tagen war die Fistel geschlossen und die Wunde in weiteren 4 Tagen völlig verheilt.

Der 2. Fall betraf eine diphtherisch infizierte Phlegmone der rechten Hand. Zunächst wird nur Trockenserum gegeben, was keine merkbare Veränderung bewirkt. Daraufhin erhält Pat. unter Fortsetzung der Trockenserumbehandlung ebenfalls 8000 IE. intramuskulär. Auch hier tritt nun in kürzester Frist Heilung ein.

Der 3. ist der oben beschriebene Fall W.

Vielleicht noch bedenklicher als für den Pat. selbst ist die Bedeutung, die die Anwesenheit der Diphtheriebazillen für ihre Weiterverbreitung hat. Mehrfache Erkrankungen an Rachendiphtherie sind bekannt geworden, die mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Ansteckung bei an Wunddiphtherie Erkrankten zurückzuführen sind. Ich erinnere

an die Veröffentlichungen Kißkalts, Låwen und Reinhardts u. a. Und dabei handelte es sich um Fälle, die bereits als infiziert diagnostiziert waren, wo man also sicher hat nach Möglichkeit die nötige Vorsicht walten lassen. Um wieviel gefährlicher sind erst die unerkannten Fälle! Besonders geeignet zur Verbreitung sind kleine Wunden, die zunächst vom Pat. selbst behandelt und erst nach längerer Zeit, weil sie nicht heilen wollen, dem Arzte vorgeführt werden, der bisher auch kaum auf den Verdacht einer diphtherischen Infektion gekommen ist. Die Möglichkeiten der Uebertragung gehen in diesen Fällen ins Ungemessene. Wir haben es hier mit einer der Pflanzstätten zu tun, von der die Diphtherie ungestört und nicht gehemmt sich weiter entwickeln und verbreiten kann.

Leider sind die Aussichten, dieser Sorte von Bazillenträgern in epidemiologischem Sinne erfolgreich zu Leibe gehen zu können, ebenso gering wie die im Kampfe gegen die Diphtherie-Dauerträger überhaupt. Dennoch aber ist es dringend erforderlich, jede Möglichkeit zu benützen, durch die wir die Diphtheriegefahr mindern können. Dazu ist es nötig, daß jede verdächtige Wunde bakteriologisch untersucht wird. Ergibt sich ein positiver Befund, so müssen sofort energische Maßnahmen getroffen werden, um die gefährlichen Eindringlinge zu beseitigen. Da die Patienten durch die Infektion meist gar nicht belästigt werden, wird sich eine strenge Isolierung der Kranken kaum durchführen lassen, und wir müssen darauf sehen, möglichst schnell die Bakterien zu vernichten. Dafür ist nach den theoretischen Ueberlegungen, denen die Praxis in unseren Fällen entsprochen hat, die gleichzeitige Anwendung der Serumtherapie am Orte der Wunde und die intramuskuläre Injektion sehr geeignet. Diese hat auch noch den Vorteil, plötzlich auftretende Toxinwirkungen beizeiten zu paralisieren. Ob es durch die allgemeine und lokale Serumbehandlung immer gelingen wird, so rasch die Entkeimung und Heilung der Wunden zu erzielen, erscheint deshalb fraglich, weil die Wunden meistens sekundär, z. B. mit Streptokokken, infiziert sind. Deshalb dürfte eine gleichzeitige chemotherapeutische Lokalbehandlung indiziert sein. Versuche hierüber sind unter anderem im hiesigen Institut von Franz ausgeführt worden.

Für die bakteriologischen Untersuchungsstellen aber erwächst die Pflicht, in jedem einzelnen Falle von Wunddiphtherie eine Isolierung der Bazillen und Prüfung ihrer Fähigkeit, Kohlehydrate einschließlich der Saccharose zu vergären, vorzunehmen und sich nicht mit dem mikroskopischen Bilde zu begnügen. Dieses genügt wohl in der Mehrzahl der Fälle für die Feststellung einer Rachendiphtherie; aber schon bei der Untersuchung der Nasen- und Ohrendiphtherie sind bei der bakterioskopischen Methode Fehldiagnosen häufiger. Bei der Wunddiphtherie hingegen versagt diese Methode vollkommen. Da es Pseudomembranen ohne Diphtheriebazillen und Diphtheriebazillen-Befunde ohne klinische Symptome gibt, bleibt als einziges Mittel zur Sicherstellung der Diagnose nur die eingehende bakteriologische Untersuchung, wobei aber alle diagnostischen Hilfsmittel heranzuziehen sind. Vorwürfe gegen die Diphtheriediagnose, wie sie in jüngster Zeit, z. B. von Schanz erhoben wurden, sind ein sehr ernstes Zeichen dafür, daß der praktische Arzt heutzutage bei der Diphtheriediagnose nicht immer das nötige Vertrauen zum Bakteriologen hat. Der Grund ist unzweifelhaft darin zu erblicken, daß wir bei der Diphtherieuntersuchung als einziger von allen bakteriologischen Untersuchungsmethoden uns meist nur auf das charakteristische und doch

manchmal so täuschende Aussehen verlassen und abgesehen haben von einer Isolierung und kulturellen Identifizierung der Erreger.

### Zusammenfassung.

Die in Breslau angestellten Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebazillen auf Wunden haben folgendes ergeben:

1) Von 105 Wundabstrichen waren 18 mit Diphtheriebazillen behaftet, von denen sich 10 als für Meerschweine toxisch erwiesen.

2) 46mal wurde eine bisher noch nicht beschriebene Art diphtherieähnlicher Stäbchen gefunden, die ich Paradiphtheriebazillen genannt habe. Diese sind sicher für Meerschweinchen, sehr wahrscheinlich auch für Menschen, völlig unschädlich.

3) Eine zuverlässige Unterscheidung zwischen echter und Paradiphtherie ist nur möglich durch Prüfung ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Kohlehydraten, insbesondere der Saccharose, die von echter Diphtherie niemals, von Paradiphtherie immer unter Säurebildung angegriffen wird.

4) Da die Diagnosestellung der Wunddiphtherie fast ausschließlich von der bakteriologischen Untersuchung abhängt, muß diese mit einer über das gewöhnliche Maß hinausgehenden Genauigkeit gestellt werden. Es sind daher alle verdächtigen Stäbchen zu isolieren und, wie angegeben, zu prüfen.

5) Die mit Diphtheriebazillen behafteten Wunden sind als eine ernste Gefährdung des Patienten sowohl wie der Umgebung anzusehen.

6) Als zweckmäßig für die Entkeimung der Wunden hat sich uns in einer kleinen Zahl von Fällen die Serumbehandlung in lokaler und allgemeiner Anwendung erwiesen. Sie ist auch als Prophylaxe gegen Toxin- und Toxonwirkung streng angezeigt.

### Quellenangabe.

- 1) Anschütz u. Kißkalt, Wunddiphtherie. (München. med. Wochenschr. 1919/2.) — 2) Billroth u. Winiwarther, Allgem. Chirurgie. 1889. — 3) Brunner, C., Ueber Wunddiphtherie. (Berlin. klin. Wochenschr. 1892/22 1894/13.) — 4) Harms, Zur Frage der Wunddiphtherie. (München. med. Wochenschr. 1920/18.) — 5) Hock, Wunddiphtherie. (Ebend. 1919/23.) — 6) Jacobson, Wunddiphtherie. (Deutsche med. Wochenschr. 1919/23.) — 7) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen: Diphtherie. — 8) Låven u. Reinhard, Ueber endemische Wunddiphtherie etc. (München. med. Wochenschr. 1919/33.) — 9) Lexer, Ebend. 1919/44. — 10) Lubenau, Zur Säurebildung der Diphtheriebazillen. (Arch. f. Hyg. 1908/66.) — 11) Nieter, Zur Wunddiphtherie in Magdeburg. (München. med. Wochenschr. 1919/9.) — 12) Pawlowski, Ueber den Pseudodiphtheriebazillus bei Eiterungen des Menschen. (Arch. f. klin. Chir. Bd. 91/2.) — 13) Schmid, Ueber Wunddiphtherie. (München. med. Wochenschr. 1919/3.) — 14) Sudek, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. Thorn. (Arch. f. klin. Chir. Bd. 60/3. 1899.) — Thorn, Ueber den Befund eines diphtherieähnlichen Bakteriums auf granulierenden Wunden. (Ebend. Bd. 58. 1899.) — 16) Weinert, Wunddiphtherie. (München. med. Wochenschr. 1918/51; 1919/9 u. 51.) — 17) Wieting, Ebend. 1919/1. — 18) Züllig, Wunddiphtherie und Wunddiphtheroid. (Beitr. z. klin. Chir. 1913.)



*Nachdruck verboten.*

## Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. Kiskalt).]

Von Prof. Dr. med. **Ludwig Bitter.**

Mit 1 Kurve im Text.

In Nr. 47 der München. med. Wochenschr. (1919) veröffentlicht Schmid eine Arbeit „Ueber Kontaktinfektionen mit Paratyphus B“. Sie betrifft eine kleine Hausepidemie von 10 typhusartig verlaufenden Erkrankungen, als deren Erreger das *Bacterium paratyphi B* festgestellt werden konnte. Aus den interessanten Mitteilungen ist der Gang der Kontaktinfektion bei der größten Anzahl der Fälle klar ersichtlich. Schmid gibt als Hauptgrund für seine Veröffentlichung den Umstand an, daß nach dem bislang über Paratyphus B-Erkrankungen feststehenden Kontaktinfektionen, im Gegensatz zu Typhuserkrankungen, eine Seltenheit darstellen. Zu dieser Annahme ist Schmid zweifellos auf Grund des Studiums der älteren Literatur, insbesondere der diesbezüglichen Ausführungen von Uhlenhuth, Rölly, Jochmann u. a., berechtigt. Die neueren Feststellungen auf diesem Gebiete bewegen sich indessen in ganz anderer Richtung.

Um sich über die Frage des vorwiegenden Infektionsmodus der durch Paratyphus B-Bakterien hervorgerufenen Erkrankungen zu unterrichten, ist es zunächst von grundlegender Wichtigkeit, sich über die klinischen Erscheinungen der Krankheitsformen klar zu werden, die man als Paratyphus B bezeichnen will. Nach dem Vorgehen von Bollinger unterscheidet man heute für gewöhnlich 1) die choleraähnliche, 2) die gastrointestinale und 3) die typhöse Form des Paratyphus B. Für das Zustandekommen aller 3 Formen will man das Paratyphus B-Bakterium verantwortlich machen, die beiden ersten sollen häufiger einmal auch durch das Gärtner-Bakterium und durch das dem Paratyphus B-Bakterium sehr nahe verwandte Breslau-Stäbchen hervorgerufen werden. Typhöse Erkrankungen, die auf eine Infektion mit dem *Bacterium enteritidis* Gärtner und Breslau beruhen, sind mit Sicherheit aus der gesamten Literatur nicht nachzuweisen. Choleraartige und Gastroenteritiserkrankungen, hervorgerufen durch die 3 genannten Angehörigen der Paratyphusgruppe, sollen vorzugsweise entstehen nach dem Genuß von zu Lebzeiten der Schlachttiere oder seltener nach der Schlachtung mit ihnen infiziertem Fleisch. Derartig entstandene Erkrankungen hat man deshalb auch als Fleischvergiftungen bezeichnet. — Nun findet sich in der Literatur bis zum Kriege durchweg die Angabe, daß die enteritischen Formen des Paratyphus die typhösen bei weitem überwögen, eine Feststellung, der ich für Schleswig-Holstein schon 1911 in einem Referate über eine diesbezügliche Arbeit Röllys (1) entschieden widersprochen habe.

Reiner Müller (2) hat in einer beachtenswerten Arbeit 1914 unsere im Kieler Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten an einem großen Material gewonnene Ueberzeugung dargelegt, daß die unter dem Bilde der Gastroenteritis oder Cholera verlaufenden Fleischvergiftungen ätiologisch und klinisch von den durch das Paratyphus B-Bakterium bewirkten Erkrankungen abzutrennen sind. Erstere verlaufen, wie gesagt, fast ausnahmslos unter dem Bilde der Gastroenteritis oder Cholera und sind durch die Infektion mit dem *Bacterium enteritidis* Gärt. oder Bresl. bedingt, letztere haben einen typhusartigen Charakter und das echte Paratyphus B-Bakterium zum Erreger. Reiner Müller hat von 1903—1913 bei 400 Personen Paratyphus B nachgewiesen, bei 95 nur serologisch; bei 306 wurden echte Paratyphus B-Bakterien gezüchtet. In der gleichen Zeit konnten bei 67 Personen Enteritisbakterien vom Typus Breslau gefunden werden, die außerdem aus 15 Nahrungspuben gezüchtet wurden. Allemal handelte es sich in den Fällen, wo sich die echten Paratyphus B-Bakterien fanden, um typhöse Erkrankungen, während die durch die Fleischvergifter bedingten als Gastroenteritis oder gar Cholera imponierten. Ganz die gleiche Feststellung habe ich von 1914 bis zum heutigen Tage machen können. Ich habe in weit über 400 Fällen das Paratyphus B-Bakterium als Krankheitserreger ermittelt und 61mal Fleischvergifter von beiden Typen aus Exkreten, Körperflüssigkeiten und Nahrungsmitteln isolieren können. Nie habe ich gehört oder gesehen, daß eine Krankheit, die durch das echte Paratyphus B-Bakterium bedingt war, unter gastrointestinalen oder choleraähnlichen Erscheinungen verlaufen wäre, und umgekehrt ist kein Fall zu meiner Kenntnis gekommen, in dem eine Person, bei der ich einen der beiden Fleischvergifter gefunden habe, eine typhöse Krankheit durchgemacht hätte. Das Initialstadium des Paratyphus B verläuft allerdings nicht selten stürmischer als das des Unterleibstypus. Erbrechen und Durchfälle sind im Beginn der Erkrankung keine Seltenheit, aber auch beim Unterleibstypus beobachtet man ja derartige Einsätze, und das weitere Bild der ganzen Erkrankung wird bald beim echten Paratyphus B derartig, daß die das Untersuchungsmaterial ein-sendenden Aerzte regelmäßig als klinische Diagnose „Typhus“ schreiben; es sei denn, daß es sich um Fälle aus größeren oder kleineren Epidemien handelt, bei denen der Bakteriologe dem behandelnden Arzte bereits mitgeteilt hatte, daß die unter dem Bilde des Unterleibstypus verlaufenden Erkrankungen in Wirklichkeit Paratyphus B-Fälle seien. Auch über unter den Erscheinungen der Dysenterie beginnende Erkrankungen wird aus dem Felde, z. B. von Stephan (8), berichtet. Solche Erkrankungen machten von seinem Krankenmaterial sogar 80 Proz. aus. Alle diese aber gingen allmählich in eine typhöse oder langwierig verlaufende „typhoide“ Form über.

Ich habe in meiner Veröffentlichung über die Makrelenvergiftung (3) in Kiel 1919, bei der als Erreger das *Bacterium enteritidis* Breslau festgestellt werden konnte, 2 chronisch verlaufende Erkrankungsfälle beobachten können, bei denen noch nach mehr wie 4 Wochen die Krankheitserreger im Körper nachgewiesen werden konnten, ohne daß es zum Auftreten typhöser Krankheitserscheinungen kam. Die Patienten waren lediglich wegen gastrischer Beschwerden zum Arzte gekommen und hatten nicht einmal Fieber. Diesen Befund halte ich in erster Linie aus dem Grunde für außerordentlich wichtig, weil er gegen die viel geäußerte

Annahme spricht, daß lediglich durch die Menge der aufgenommenen, zur Gruppe der Paratyphus B-Bakterien gehörigen Krankheitserreger bzw. ihrer Gifte der klinische Verlauf der Erkrankung bestimmt würde. Es ist eine bekannte Tatsache, daß bei der choleraähnlichen und gastro-intestinalen Form die Krankheitserreger im allgemeinen schnell aus dem Körper des Pat. zu verschwinden pflegen, während sie bei der typhösen Form, also beim echten Paratyphus B, ähnlich wie beim Unterleibstypus, regelmäßig längere Zeit in ihm verbleiben, und nicht selten Neigung zeigen, den Rekonvaleszenten zum Dauerausscheider zu machen. Dauerausscheider von Enteritisbakterien sind in der Literatur bislang nicht beschrieben; auch ich habe in Schleswig-Holstein niemals einen solchen finden können. Dauerausscheider von echten Paratyphus B-Bakterien dagegen gehören keineswegs zu den Seltenheiten. Lentz (4) beispielsweise berichtet schon 1907 über ein länger als 1 Jahr Paratyphusbakterien ausscheidendes Kind. Conradi (5) hat neuerdings unter 7000 gesunden Leuten im Felde 8 gesunde Ausscheider von Paratyphus B-Bakterien gefunden, und ich selbst verfüge über eine größere Anzahl von Fällen, in denen ich Patienten, bei denen ich echte Paratyphus B-Bakterien im Laufe ihrer typhusartigen Erkrankung feststellen konnte, zu Dauerausscheidern bis über Jahre hinaus werden sah.

Wie ist nun der von B. Fischer, Reiner Müller und mir erhobene Tatbestand mit den Angaben in der Literatur in Einklang zu bringen? Meines Erachtens nur dadurch, daß die Abtrennung der echten Paratyphus B-Bakterien von den beiden Fleischvergiftern von den Züchtern dieser Mikroorganismen nicht vollkommen genug durchgeführt ist. Das Gärtner-Stäbchen ist ja gegenüber den anderen Angehörigen der Paratyphusgruppe außerordentlich leicht und sicher zu identifizieren. Eine Verwechslung mit echten Paratyphus B-Bakterien und Breslau-Stäbchen wird hauptsächlich auf Grund des agglutinatorischen Verhaltens auch für den weniger geübten Bakteriologen unmöglich sein. Anders bei dem Paratyphus B- und Breslau-Bakterium! Wenn man allerdings das Phänomen der Wallbildung, das nach unseren im wahren Sinne des Wortes tausendfachen Erfahrungen alle frisch isolierten Paratyphus B-Bakterien nach 24-stünd. Bebrütung und darauf folgender mindestens 24-stünd. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur, ebenso wie übrigens auch die Gärtner-Bakterien zeigen, genau beobachtet, dann wird die Unterscheidung von Breslau- und echten Paratyphus B-Bakterien schon außerordentlich erleichtert. Die Enteritisstäbchen vom Typus Breslau zeigen nämlich dieses Phänomen niemals! Eine weitere zuverlässige Möglichkeit zur Unterscheidung der Paratyphus B- und Breslau-Stäbchen ist der Fütterungsversuch an weißen Mäusen mit Reinkulturaufschwemmung. Nach der stomachalen Aufnahme von ziemlich frisch isolierten Enteritisbakterien, gleichgültig ob vom Typus Breslau oder Gärtner, gehen die Mäuse mit großer Sicherheit durchschnittlich am 8. Tage zugrunde. Aus dem steril entnommenen Herzblut züchtet man die verfütterten Mikroorganismen in großen Mengen in Reinkultur. Mit echten Paratyphus B-Bakterien gefütterte Mäuse sterben in der Regel nicht. Jedenfalls gelang es Reiner Müller und mir bisher in großen Versuchsreihen nicht, in ihrem Herzblute die verfütterten Mikroorganismen nachzuweisen. Die von Reiner Müller (6) angegebene Raffinosereaktion ermöglicht eine einigermaßen sichere Unterscheidung beider Bakterien, und schließlich gelingt es, unter Verwendung

guter Immunsera, auch agglutinatorisch einen deutlichen Unterschied zwischen beiden zu konstatieren, dergestalt, daß jedes Serum den zu ihm gehörigen Stamm höher agglutiniert als den verwandten.

Werden diese Merkmale von allen Bakteriologen genau beobachtet, so müssen sich meines Erachtens sehr bald die Stimmen mehren, die für eine Trennung der Aetiologie von Paratyphus B-Erkrankungen (typhöse Form) und von Enteritiserkrankungen (gastrointestinale und choleraähnliche Form) eintreten. Von besonderer Wichtigkeit wäre es, nach diesen Gesichtspunkten systematische Untersuchungen des Fleisches der Schlachttiere, insbesondere der notgeschlachteten, anzustellen, um das meines Erachtens noch nicht geklärte Problem zu lösen, ob beim Schlachttier wirklich echte Paratyphus B-Bakterien vorkommen. Daß übrigens der Aufenthalt von echten Paratyphus B-Bakterien im Fleische die nach dessen Genuß etwa auftretende Krankheit nicht in dem Sinne zu beeinflussen braucht, daß nun wenigstens häufiger einmal Enteritiserkrankungen resultierten, zeigt die von Bernhard Fischer (7) 1903 beschriebene große Paratyphusepidemie in Kiel. Mit größter Wahrscheinlichkeit konnte von Fischer nachgewiesen werden, daß die fast 200 Erkrankungen auf den Genuß von infiziertem Fleisch zurückzuführen waren. Sämtliche verliefen unter dem Bilde des Typhus und waren auch als Typhuserkrankungen gemeldet.

Während nun bei den Enteritiserkrankungen (Fleischvergiftungen) Kontaktinfektionen zu den größten Seltenheiten gehören, spielt bei der typhösen, durch das echte Paratyphus B-Bakterium hervorgerufenen Krankheit die Kontaktinfektion dieselbe vorherrschende verhängnisvolle Rolle wie beim Unterleibstyphus. Bei den vielen Fällen von Paratyphus, die ich während meiner Tätigkeit am Untersuchungsamt in Kiel bakteriologisch zu klären Gelegenheit hatte, habe ich immer und immer wieder diese Beobachtung machen können. Ich habe Gelegenheit gehabt, Paratyphusepidemien in einzelnen Orten mit bis zu etwa 70 Erkrankungen zu beobachten, von denen zweifellos der weitaus größte Teil durch Kontaktinfektionen zustande gekommen war. Die neueren Feststellungen aus dem Felde lassen bezüglich des Ueberwiegens der Kontaktinfektion bei Paratyphus B keinen Zweifel. Stintzing hat schon 1916 in seinem Bericht über den Paratyphus auf dem Warschauer Kongreß für innere Medizin in Uebereinstimmung mit Uhlenhuth die Tatsache mitgeteilt, daß beim Heere die Verbreitung des Paratyphus in erster Linie durch Kontaktinfektion erfolge. Dementsprechend ist seine am gleichen Orte gemachte Mitteilung nach dem oben Gesagten durchaus folgerichtig, daß nämlich hauptsächlich typhös verlaufende Fälle zur Beobachtung kamen. Auch Galambos (8) betont mit aller Entschiedenheit, daß bei der österreich-ungarischen Armee die in der typhösen Form in gehäuften Mengen zur Beobachtung gekommenen Paratyphus B-Erkrankungen in der Regel durch Kontaktinfektionen zustande gekommen seien. Abweichend von diesen Feststellungen äußert sich allerdings Kwasniewski (9) bezüglich des Zustandekommens der gehäuften Paratyphus B-Erkrankungen bei einem 50 000 Mann starken Truppenteil an der siebenbürgisch-rumänischen Front. Er lehnt die Kontaktinfektion ab und meint mit Jos. Koch, daß das von heruntergekommenen Schlachtieren stammende oder in erster Linie wohl das durch Bazillenträger und Dauerausscheider infizierte Fleisch hauptsächlich als Infektionsquelle in Betracht käme. Ueber den klinischen Verlauf der Erkan-

kungen spricht er sich nicht klar aus, betont aber, daß, abgesehen von einigen explosionsartig auftretenden und mit stürmischen klinischen Erscheinungen einsetzenden Massenerkrankungen, die nach meiner Meinung sehr gut Fleischvergiftungen gewesen sein können, die bakteriologisch und serologisch festgestellten Paratyphus B-Erkrankungen in derselben Woche ihren Höhepunkt erreichten wie die übrigen beobachteten infektiösen Darmerkrankungen Ruhr und Unterleibstypus und daß man den Eindruck hatte, daß sie durch Kontaktinfektion bedingt seien.

Uebereinstimmend wird von allen Autoren eine im Verlaufe des Krieges, besonders in den letzten Jahren, sich steigernde Zunahme der Paratyphus B-Erkrankungen unter den Truppen betont. Galambos und W. Hoffmann (10) heben auch noch besonders hervor, daß es sich dabei im wesentlichen um typhöse Form handelte. Wolf Gärtner teilt mir noch mit, daß in der Zeit vom Juli 1916 bis Mitte Oktober 1918 von 36 typhösen Erkrankungen eines Marine- und Werftarbeiterkommandos in Konstantinopel sich 9 als Typhus-, 16 als Paratyphus A- und 11 als Paratyphus B-Fälle erwiesen haben. Ueber gleichartige Feststellungen bei der Zivilbevölkerung Deutschlands und bei den im Lande verbliebenen bzw. zurückgekehrten Soldaten ist mir außer einigen Angaben in einer Arbeit Wagners noch nichts bekannt geworden.

Wagner (15) konnte während des Krieges im Bereiche der Hygienischen Untersuchungsstelle der Ostseestation (Kiel) durch Züchtung der Erreger folgende Feststellung über die Verteilung von Typhus- und Paratyphuserkrankungen bei den im genannten Bereiche stationierten Soldaten erheben:

Erkrankung	1914	1915	1916	1917	1918	Summe
Typhus	17	33	3	15	40	108
Paratyphus A	—	—	2	2	1	5
Paratyphus B	2	4	4	17	19	46

Ueberhaupt sind die Angaben in der Literatur über das Vorkommen des echten Paratyphus B in Deutschland bislang sehr spärlich gewesen. Es erscheint dringend wünschenswert, darüber Material zu sammeln, und ich hoffe, daß die nachfolgenden diesbezüglichen Feststellungen für Schleswig-Holstein die Veranlassung für möglichst zahlreiche Erhebungen nach derselben Richtung in den anderen Landesteilen werden.

Aus der Zeit vor dem Kriege sind drei brauchbare Angaben über die Häufigkeit des Paratyphus B im Vergleich mit der des Unterleibstypus für verschiedene Landesteile vorhanden, die allerdings auf verschiedene Weise gewonnen sind. B. Fischer (11) berechnet für Schleswig-Holstein die Zahl der 1904 vorgekommenen Paratyphus B-Erkrankungen auf 50 unter 636 im gleichen Zeitraum gemeldeten Typhusfällen = 7,9 Proz. Nach Conradi (12) entfielen 1903 in Lothringen auf 235 bakteriologisch festgestellte Typhuserkrankungen 18 Fälle von Paratyphus B = 7,6 Proz., und Klinger (13) stellte fest, daß 1906 im Südwesten des Reiches 3560 Typhus- und 304 Paratyphus B-Fälle = 8,5 Proz. vorgekommen sind. Fromme (14) meint, daß derartige Berechnungen und Feststellungen nur dann wirklich verwertbare Ergebnisse liefern, wenn, wie bei Klinger und Conradi bakteriologisch nachgewiesene Fälle zum Vergleich herangezogen werden. Ich bin nicht ohne weiteres dieser Ansicht; denn es dürfte eine bekannte Tatsache sein, daß Paratyphus B-Bakterien, wenigstens in Stuhl und

Urin, im allgemeinen leichter nachweisbar sind als die Erreger des Unterleibstypus. Gerade in früheren Jahren erfolgte nun aber der erstmalige, also feststellende Nachweis der Erreger von typhösen Erkrankungen sehr häufig aus Stuhl oder Urin und auch heute noch dürfte bei der vielen Aerzten leider noch mangelnden Kenntnis von der Wichtigkeit des Blutzüchtungsverfahrens in der ersten Zeit der Erkrankung für die bakteriologische Diagnose öfter einmal die Feststellung durch einen positiven Stuhl- oder Urinbefund vor sich gehen. Man kann nach meiner Meinung die von Fischer errechneten Zahlen für Schleswig-Holstein als Minimalzahlen denen Klingers und Conradis gegenüberstellen. Aus dem unten Mitgeteilten geht hervor, daß bei Befolgung der von Fromme vorgeschlagenen Berechnungsart größere Anteilsziffern für Paratyphus B resultieren, als bei den von Fischer und teilweise auch von mir geübten Verfahren.

Die Angaben der drei genannten Autoren widersprechen jedenfalls der nicht selten geäußerten Ansicht, daß die Paratyphus B-Erkrankungen in erster Linie in den südlichen Teilen unseres Landes vorkommen oder vorkamen. Schleswig-Holstein zeigt einen noch höheren Prozentsatz von Paratyphus B-Fällen wie Lothringen, wobei noch besonders hervorgehoben werden muß, daß es sich bei der Berechnung von Fischer nur um den echten Paratyphus B (typhöse Form) handelte.

Für die Zeit von 1903—1913 haben wir in Reiner Müllers Angabe, daß er in diesen 11 Jahren bei 400 Personen eine Paratyphus B-Erkrankung feststellte, wieder brauchbare Mindestzahlen. Wir können sagen, daß von 1903—1913 unter den 5092 gemeldeten Typhusfällen wenigstens 400 Paratyphus B-Fälle waren, was wieder einem Prozentsatz von 7,9 entspricht. Man sieht also, daß in der ganzen in Betracht kommenden Zeit bis zu Kriegsbeginn die Beteiligung des Paratyphus B-Bakteriums bei der Erregung typhöser Erkrankungen in Schleswig-Holstein gleich geblieben ist. Wichtig ist es, hierbei zu bemerken, daß in den medizinisch-polizeilichen Anzeigen für die Provinz Schleswig-Holstein mit Ausschluß von Altona die bakteriologisch festgestellten Fleischvergiftungsfälle niemals unter der Rubrik „Paratyphus“ erschienen sind, und daß die Gesamtzahl der angeführten gemeldeten 5092 typhösen Erkrankungen die 400 bakteriologisch und serologisch festgestellten Paratyphus B-Fälle in sich begreift.

Mit dem Beginne des Krieges setzt ein deutliches Steigen der Paratyphus B-Erkrankungen in Schleswig-Holstein ein. Es waren unter 100 in Schleswig-Holstein gemeldeten Typhus- und Paratyphusfällen (typhöse Erkrankungen) wenigstens Paratyphus B Fälle:

1914	8,0	1917	15,9 ( 9,1 ohne Flensburg)
1915	9,3	1918	6,8 (10,1 ohne Kiel und Schusterkrug)
1916	12,5	1919	21,9

Zur Erläuterung dieser Zahlen diene folgende Angabe:

Polizeilich gemeldete Typhus- und Paratyphusfälle:	Bakteriologisch und serologisch festgestellte Paratyphus B-Fälle:
1914 344	27
1915 338	33
1916 375	47
1917 388	139 81 ohne Flensburg
1918 919 612 ohne Epidemien in Kiel und Schusterkrug	62
1919 486	98

8\*

Bezieht man die diesbezüglichen Feststellungen nur auf die von mir bakteriologisch geklärten Fälle, so kommt man zu folgenden Zahlen:

Zahl der durch Züchtung festgestellten Typhuserkrankungen:		Paratyphuserkrankungen:	
1914	142		21
1915	150		23
1916	134		34
1917	265		95 47 ohne Flensburg
1918	264 154 ohne Kiel u. Schusterkrug		41
1919	195		73

Also waren von 100 durch Züchtung festgestellten typhösen Erkrankungen in Schleswig-Holstein Paratyphus B-Erkrankungen:

1914	14,8	
1915	15,3	
1916	25,3	
1917	36,0	17,8 ohne Flensburg
1918	15,5	26,6 ohne Kiel und Schusterkrug
1919	37,4	

Sehr ähnliche Prozentzahlen, wenigstens für 1916—1919, erhalte ich aus den im übrigen selbstverständlich abweichenden Zahlen der überhaupt, also mit Einschluß der Nachuntersuchungen, von mir erhobenen bakteriologisch und serologisch positiven Befunde. Auf 100 positive Typhusbefunde kamen positive Paratyphus B-Befunde:

1914	8,7	1917	30,8
1915	9,4	1918	13,0
1916	24,3	1919	36,4

Aus allen 3 Zusammenstellungen geht jedenfalls die von mir oben betonte Zunahme des Paratyphus B während der Kriegsjahre und des ersten Nachkriegsjahres hervor. Bezüglich 1917 ist zu erwähnen, daß in ihm eine größere Paratyphusepidemie von über 70 gemeldeten Fällen in Flensburg vorkam, wodurch das starke Ansteigen der absoluten Zahlen in diesem Jahre erklärt wird. Immerhin ist auch diesem Epidemiejahr gegenüber der besonders starke Anstieg 1919 auffällig; 1919 ist es nirgendwo zu einer größeren Paratyphus B-Epidemie gekommen. Betrachtet man nur die Prozentzahlen, so könnte man den Eindruck gewinnen, daß 1918 der Paratyphus B in Schleswig-Holstein erheblich zurückgegangen wäre. Ein Blick auf die absoluten Zahlen aber zeigt, daß diese Annahme irrig ist, und daß nur gegenüber den vorgekommenen Typhuserkrankungen der Paratyphus B im genannten Jahre erheblich, bei Berechnung auf die gemeldeten Fälle sogar unter das Verhältnis vor dem Kriege zurücktritt. Die absoluten Zahlen zeigen bei beiden Berechnungsarten, daß für 1918 nur ein Zurückgehen gegenüber 1917 festgestellt werden kann, das, wenn man die für die Flensburger Epidemie geltenden abzieht, nicht einmal groß genannt werden kann. Auch das Verhältnissbild wird ein anderes, wenn man die 1918 vorgekommenen größeren Typhusepidemien berücksichtigt. In diesem Jahre ereigneten sich in Kiel von Juli bis Dezember allein 267 Typhuserkrankungen, davon 213 in der Zeit vom 14. Juli bis 21. Sept. Auch in Schusterkrug (Kreis Eckernförde) war eine nennenswerte Typhusmassenerkrankung zu verzeichnen; es kamen daselbst in der zweiten Aprilwoche 31 Fälle zur Anzeige, denen sich bis Ende Mai noch 9 weitere anschlossen, so daß die Gesamtzahl der Fälle dieser Epidemie 40 beträgt. Zieht man diese in ihren Anfängen sicher auf eine Wasser- oder Nahrungsmittel- (Milch-)infektion zurückzuführenden Epidemien von der

Gesamtzahl der gemeldeten Typhus- und Paratyphusfälle ab, so erhält man statt 919 nur 612 und das Prozentverhältnis steigt auf diese nicht aus größeren Epidemien stammende Zahl bezogen auf 10,1.

Noch auffälliger erscheint der Einfluß dieser Massenerkrankungen auf das Verteilungsbild von Typhus und Paratyphus, wenn man die Zahlen der durch Züchtung der Erreger sicher festgestellten Erkrankungensfälle betrachtet. Aus 264 Typhusfällen werden, nach Abzug der aus der Epidemie von Kiel und Schusterkrug nachgewiesenen Erkrankungen, 154, und die Prozentzahl an Paratyphus B-Fällen steigt dementsprechend von 15,5 auf 26,6, eine Zahl, die, wenn man für 1917 die Flensburger Paratyphusepidemie in gleicher Weise berücksichtigt, höher ist als alle in den Vorjahren erreichten.

In die Augen springend ist der Unterschied der Zahlen bei den zwei verschiedenen Berechnungsarten!

Das Prozentverhältnis von Typhus- und Paratyphusfällen ist, aus den positiven Züchtungsergebnissen errechnet, annähernd um die Hälfte höher als bei Beziehung der bakteriologisch und serologisch festgestellten Erkrankungen auf die gemeldeten Fälle. Die auf die letzte Weise gewonnenen Angaben Fischers und die von mir aus den Mitteilungen Reiner Müllers ebenso gewonnene Prozentzahl würde also wahrscheinlich, wenn Unterlagen für die erste Berechnungsart vorhanden wären, in ähnlicher Weise ansteigen, und Conradis und Klingers Zahlen gegenüber in noch schlagenderer Weise die Häufigkeit der Paratyphus B-Erkrankungen in Schleswig-Holstein dartun. Vorsichtiger aber erscheint mir die Berechnung des Prozentverhältnisses unter Bezugnahme auf die gemeldeten Fälle zu sein. Die Meldungen dürften bei einer Krankheit wie Typhus ziemlich vollständig erfolgen, und man gewinnt aus der sicheren Feststellung: auf 100 gemeldete typhöse Erkrankungen kommen wenigstens x sicher durch das Paratyphus B-Bakterium bedingte, ein ziemlich klares Bild über die Verbreitung und krankmachende Wirkung dieses pathogenen Mikroorganismus. Um zu veranschaulichen, über wie viele der 1914–1919 gemeldeten Fälle von typhösen Erkrankungen ich mich bakteriologisch bzw. serologisch unterrichten konnte, sei folgende Zusammenstellung mitgeteilt. Zu dieser Zusammenstellung sind die aus Altona gemeldeten abgezogen (vgl. weiter unten). Man sieht, daß meine für 1919 errechnete (also mit bezug auf die der gemeldeten Fälle gewonnene) Zahl den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen am nächsten kommen dürfte. Ueber die Gründe meiner verhältnismäßig geringen Ausbeute von positiven Ergebnissen in den Jahren 1917 und 1918 werde ich an anderer Stelle berichten.

Schleswig-Holstein außer Altona.

Jahr	Gemeldete	Bakteriologisch festgestellt	Proz.	Nur serologisch festgestellt	Bakteriologisch oder serologisch festgestellt	Proz.	Typhus- und Paratyphus B-Fälle
1914	321	163	50,7	97	260	80,9	
1915	312	173	55,4	76	249	79,9	
1916	320	168	52,5	46	214	66,8	
1917	843	360	42,5	154	514	61,0	
1918	854	305	35,8	145	450	52,7	
1919	383	268	70,0	83	351	91,6	



Zu betonen ist, daß sich in den Jahren, auf die sich meine Feststellungen erstrecken, außer den genannten sich keine größeren Typhus- und Paratyphusepidemien mit Sicherheit nachweisen ließen. Kleinere bis zu 20 Fällen habe ich unberücksichtigt gelassen.

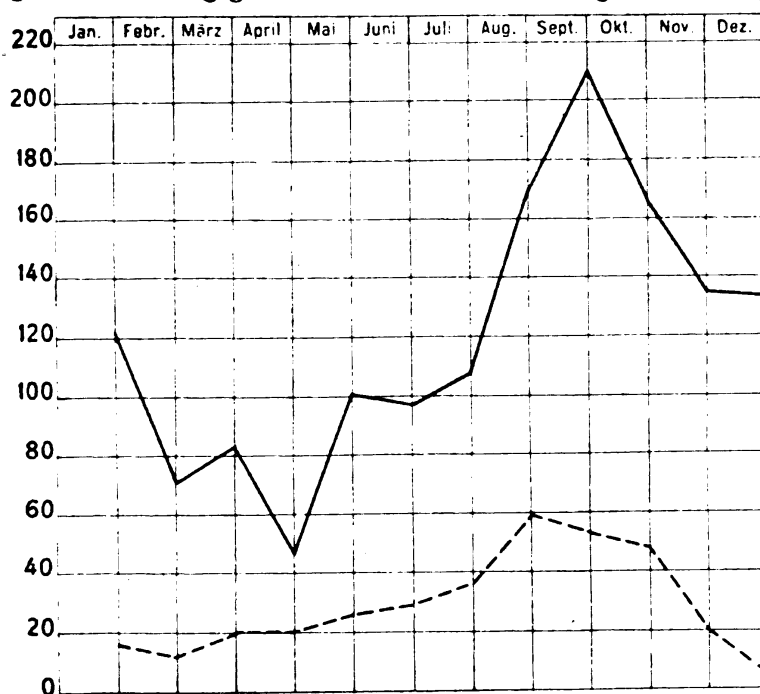
Nach dem oben über die Diagnosestellung von Paratyphus B-Erkrankungen seitens der Aerzte Gesagten erscheint es nicht verwunderlich, daß die Zahl der von mir bakteriologisch und serologisch festgestellten Paratyphus B-Erkrankungen die der polizeilich gemeldeten immer überholt, während bei den Typhusfällen gerade das Umgekehrte der Fall ist. Als Paratyphusfälle sind eben nur die angezeigt, deren Meldung auf Grund der von mir mitgeteilten bakteriologischen Diagnose erfolgte. Ein erheblicher Teil der von mir als Paratyphus B festgestellten Fälle sind entsprechend ihren klinischen Erscheinungen als Typhus gemeldet worden.

In der oben angeführten Arbeit von Kwasniewski findet sich die interessante und wertvolle Angabe, die durch eine schöne Kurve belegt ist, daß die Akme der Paratyphus B-Erkrankungen mit der der übrigen an der siebenbürgisch-rumänischen Front unter einem 50000 Mann starken Truppenteil vorgekommenen ansteckenden Darmerkrankungen genau zusammenfiel. Dieses Zusammenfallen spricht wohl mit überzeugender Deutlichkeit für eine ähnliche Verbreitungsart der Erreger von diesen Seuchen und höchst wahrscheinlich auch für eine gleichsinnige Beeinflussbarkeit der Empfänglichkeit der Menschen für die Ansteckung mit ihnen, jedenfalls für einen dieser Faktoren. Es erschien nicht unwichtig, festzustellen, ob auch in Schleswig-Holstein ähnliche Verhältnisse in der Verteilung der Paratyphus B-Erkrankungen auf die einzelnen Jahreszeiten zu beobachten sind. Bei dieser Ermittlung mußte sinngemäß wieder der Einfluß, den einzelne größere Epidemien auf den Gang der Kurve haben konnten, ausgeschaltet werden, für die von mir bearbeitete Zeit von 1914 bis 1919 also die erwähnten Massenerkrankungen von Kiel, Schusterkrug und Flensburg. Die der Kurve zugrunde liegenden Zahlen sind die der von mir erhobenen positiven Züchtungs- und Agglutinationsbefunde in dem genannten Zeitraum, verteilt auf die einzelnen Monate. Ich glaube nicht fehlzugehen, wenn ich annehme, daß in diesem Falle die bakteriologisch und serologisch festgestellten Fälle eine sicherere Unterlage für die Veranschaulichung des Ganges der in Frage stehenden Erkrankung geben als die polizeilich gemeldeten. Schon der Umstand, daß die Meldung einer anfangs zweifelhaften typhösen Erkrankung seitens des Arztes manchmal lange hinausgeschoben wird, spricht für die Benutzung meines zuverlässigen Materials. Auch der oben angeführte Umstand, daß immer weniger Paratyphus B-Fälle gemeldet als bakteriologisch und serologisch festgestellt sind, erfordert seine Benutzung (Kurve 1, S. 119).

Die beigegefügte Kurve zeigt, daß auch für Schleswig-Holstein 1914 bis 1919 ein ungefähres Zusammenfallen der jahreszeitlichen Verteilung von Typhus- und Paratyphuserkrankungen festgestellt werden kann. Der Paratyphus B erlangt, was seine Häufigkeit betrifft, im August, der Typhus im September seinen Höhepunkt. Auch sonst läuft die Kurve im wesentlichen gleichsinnig. Es mag erwähnt werden, daß 1914—1917 aus den diesbezüglichen Zahlen Kurven gewonnen werden, die ein völliges Parallellaufen erkennen lassen. Wichtig hat sich bei der Aufzeichnung der Kurven die Ausschaltung der Flensburger Paratyphusepidemie

erwiesen. Hätte diese nicht stattgefunden, so würde sich der Gipfel der Paratyphuskurve in den Juli verschoben haben. Die Nichtberücksichtigung der Typhusmassenerkrankungen in Kiel und Schusterkrug hätte, wohl wegen der relativ kleinen Zahl der Erkrankungen in Schusterkrug und der Verteilung der Kieler Fälle auf mehrere Monate, an der Richtung der Typhuslinie nichts geändert.

Dieses gleichsinnige Verhalten der Typhus- und Paratyphuskurven in den verschiedenen Monaten kann, wie gesagt, wohl für eine ähnliche Verbreitung der Krankheitserreger sprechen. Für Fleischvergiftungen (hervorgerufen durch *Bact. enterit.* Gärtner oder Breslau) habe ich in Schleswig-Holstein ein ähnliches Verhalten nicht feststellen können. Für die Zeichnung einer Fleischvergiftungskurve kommt natürlich nur die Zählung der vorgekommenen bakteriologisch geklärten Massenerkrankungen unabhängig von ihrem ziffernmäßigen Umfange in Be-



Kurve 1. Bakteriologisch und serologisch festgestellte Fälle von — Typhus und ... Paratyphus B in Schleswig-Holstein außer Altona 1914—1919.

tracht. Von 1912—1919 ereigneten sich in Schleswig-Holstein, außer Altona, bakteriologisch festgestellte Fleischvergiftungen:

Januar: 0, Februar: 1, März: 1, April: 5, Mai: 5, Juni: 5, Juli: 2, August: 6, September: 3, Oktober: 4, November: 4, Dezember: 0. Die meisten Vergiftungen kamen allerdings im August vor, nämlich 6; doch auch April, Mai und Juni zeigen je 5 Vergiftungen, so daß der Anstieg ein ganz anderer ist wie bei Typhus und Paratyphus B. Faßt man die Vergiftungen nach Viertel Jahren zusammen, so kommen in das zweite die meisten, nämlich 15, im dritten sind nur 11 zu verzeichnen. Bei einer gleichen Zusammenfassung der Zahlen für Typhus und Paratyphus B fällt dagegen die Höchstzahl mit 486 bzw. 151 Fällen übereinstimmend in das dritte Vierteljahr. Wegen der Kleinheit der Zahlen habe ich die Fleischvergiftungen von 1912—1919 angeführt. Von 1914—1919 ereigneten sich in Schleswig-Holstein außer Altona insgesamt 21; abermals die meisten (4) im August, nach Viertel Jahren zusammengefaßt aber auch von April bis Juni (7). Es dürfte wohl angebracht sein, der jahreszeitlichen Verteilung der Fleischvergiftungen an einem großen Zahlenmaterial Aufmerksamkeit zu schenken; meinen Feststellungen kann in dieser Richtung natürlich kein zu großer Wert beigemessen werden. Immerhin wird durch sie die meiner Meinung nach berechnete Annahme gestützt, daß die Jahreszeiten auf die Verteilung der

Fleischvergiftungen nicht den gleichen großen Einfluß haben können, wie auf die Typhus- und Paratyphus B-Fälle.

Wenn ich im Vorhergehenden meine Zahlen immer als für Schleswig-Holstein gültig bezeichnet habe, so trifft das eigentlich nicht ganz zu. Aus dem Stadtkreise Altona, der ein eigenes Untersuchungsamt hat, geht uns natürlich kein Untersuchungsmaterial zu. Ob und gegebenenfalls wieviel Paratyphus B-Fälle unter den von dort gemeldeten typhösen Erkrankungen (1914: 23, 1915: 26, 1916: 55, 1917: 45, 1918: 65, 1919: 79) waren, entzieht sich meiner Kenntnis. Meine mit Bezug auf die gemeldeten Fälle, von denen ich die aus Altona nicht abgezogen habe, ermittelten Paratyphus B-Zahlen sind also Minimalzahlen in des Wortes strengster Bedeutung.

Worauf das starke Ansteigen der Beteiligung des Paratyphus B-Bakteriums bei der Erregung typhöser Erkrankungen in Schleswig-Holstein seit Kriegsbeginn zurückzuführen ist, dürfte nicht ohne weiteres erklärlich sein. Daß der Typhus gegenüber dem Paratyphus unter den Truppen im Felde zurücktrat, wird auf die großzügige Durchführung der Schutzimpfung gegen Unterleibstyphus, die vor der Ansteckung mit Paratyphusbakterien nicht schützen soll, zurückgeführt. Der starke Anstieg der Paratyphus B-Erkrankungen in Schleswig-Holstein wäre mit dem Zurückkommen infizierter oder dauerausscheidender Soldaten aus dem Felde, das natürlich 1918 seinen Höhepunkt erreichte, zwanglos erklärt. Unklar aber bleibt, weshalb der Paratyphus in allen Kriegsjahren zunahm, der Unterleibstyphus aber bis 1916 sich in normalen Grenzen hielt und dann 1917 und 1918 Ziffern erreichte, die fast 3-fach über der Norm des vorhergehenden Dezenniums stehen. Man denkt angesichts dieser Tatsache an eine Beeinflussung der nicht oder ganz unvollkommen schutzgeimpften Bevölkerung durch die mangelhafte Ernährung und die Kriegsverhältnisse, um so mehr als 1919 die Typhusfrequenz auf die Hälfte von der des Jahres 1918 gesunken ist und sich stark wieder dem Stande vor dem Kriege zu nähern scheint. Die Paratyphus B-Erkrankungen dagegen haben 1919 nicht abgenommen, sondern dauernd erheblich zugenommen, ein Umstand, der, wie gesagt, unter der Berücksichtigung der Verhältnisse beim Unterleibstyphus keine eindeutige Erklärung zuläßt. Es bleibt abzuwarten, was in dieser Beziehung die kommenden Jahre bringen werden.

#### Literatur.

- 1) Bitter, Ludwig, Referat über Rolly, Fr., Ueber Paratyphusinfektionen. (München. med. Wochenschr. 1911. S. 559; Hyg. Rundsch. 1912. S. 211.) — 2) Müller, Reiner, Fleischvergiftung durch Bakterien der Paratyphus-Enteritisgruppe. (München. med. Wochenschr. 1914. S. 471.) — 3) Bitter, Ludwig, Massenerkrankungen an Gastroenteritis nach dem Genuß geräucherter Makrelen bedingt durch das Bacterium enteritidis Breslau. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 387.) — 4) Lentz, Zitiert nach Hübener, E., Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen, ihre Entstehung und Verhütung. Jena 1910. — 5) Conradi, Zitiert nach Stintzing, Referat über Paratyphus auf dem Warschauer Kongreß. (Verhandl. d. Warschauer Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1916.) — 6) Müller, Reiner, Kulturunterschiede bei Paratyphus- und Enteritiskakterien. (Deutsch. med. Wochenschr. 1910. S. 2387.) — 7) Fischer, Bernhard, Zur Epidemiologie des Paratyphus. (Festschr. z. 60. Geburtstage v. Robert Koch. Jena 1903.) — 8) Galambos, G. A., Kriegsepidemiologische Erfahrungen. Wien u. Leipzig 1917. S. 54. — 9) Kwasniewski, Zur Epidemiologie d. Paratyphus B im Felde. (Arch. f. Hyg. Bd. 88. S. 310.) — 10) Hoffmann, W., Die deutschen Aerzte im Weltkriege. Berlin 1920. — 11) Fischer, Bernhard, Untersuchungen über den Unterleibstyphus in Schleswig-Holstein. (Klin. Jahrb. Bd. 15. 1905. S. 92.) — 12) Conradi, Ueber Mischinfektion durch Typhus- und Paratyphusbakterien. (Deutsch. med. Wochenschr. 1904. Nr. 32.) — 13) Klinger, Epidemiologische Beobachtungen bei der Paratyphusbekämpfung im Südwesten des Reiches. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 30. 1909.) — 14) Fromme, Aetiologie des Typhus und Paratyphus. (Ergebn. d. allgem. Pathol. d. Menschen u. d. Haustiere v. Lubarsch-Ostertag. Bd. 13.) — 15) Wagner, Gerhard, Beiträge zur Epidemiologie und Bakteriologie des Paratyphus A usw. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 39.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die praktische Verwendbarkeit der Anreicherungs-methode mittels Antiformin zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum,

[Aus dem Bakteriologischen Institut für Thüringen zu Jena (Leiter: Geh. Ob.-Med.-Rat Prof. Dr. Abel).]

Von Dr. Gerhard Voigt, Assistenten des Instituts.

Wegen der nicht immer befriedigenden Ergebnisse mit dem gewöhnlichen Ausstrich bei der Sputumuntersuchung auf Tuberkelbazillen hat man schon frühzeitig die sogenannten Anreicherungs-methoden eingeführt, durch die man die Möglichkeit hat, eine größere Menge von Sputum auf einmal zu untersuchen und so die Tuberkelbazillen, auch wenn sie nur in sehr spärlicher Zahl vorhanden sind, mit mehr Sicherheit unter dem Mikroskop zu Gesicht zu bekommen. Die zahllosen Verfahren, die im Laufe der Zeit angegeben worden sind, teils solche biologischer Art (Jochmann-Spengler), teils solche mit Homogenisierung durch chemische Mittel, beweisen, daß sie in praxi die anfangs auf sie gesetzten Hoffnungen nicht in vollem Maße erfüllt haben; keines befriedigte recht, und auch das Antiforminverfahren, das am meisten beliebte, stellt in seiner ursprünglichen Form nicht das Ideal eines Anreicherungsverfahrens dar, wie allerlei vorgeschlagene Modifikationen uns zeigen. So löste Loeffler das Sputum nicht in der von Uhlenhuth angegebenen 15-proz., sondern in 50-proz. Antiforminkonzentration auf, zentrifugierte erst nach Zusatz einer Chloroform-Alkoholmischung zu dieser Lösung und untersuchte die über dem Chloroform entstehende (tatsächlich aber nicht immer sich bildende) Scheibe auf Tuberkelbazillen. Lorenz führte zur schnelleren und intensiveren Einwirkung des Antiformins auf das Sputum Kochen ein, während Schulte nach der Homogenisierung Brennspritus hinzufügte.

In neuerer Zeit wiederum haben namentlich Ditthorn, Schultz und Brauer das Antiforminverfahren bemängelt; sie schlagen dafür Fällungsmethoden vor, mit denen sich bessere Resultate erzielen lassen sollen. Engelsmann verwirft überhaupt jedes Anreicherungsverfahren zum einfachen Nachweis der Tuberkelbazillen und gibt dem gewöhnlichen Ausstrich den Vorzug, wogegen er zur Feststellung der absoluten Bazillenzahl der Tagesmenge die Anreicherungsverfahren für unentbehrlich hält.

Aus Vergleichsversuchen zwischen dem Perhydrolverfahren und der Lorenz-Antiforminmodifikation, die im hiesigen Institut ausgeführt worden sind, geht hervor, daß zwar das Antiforminverfahren überlegen ist, daß aber trotz einiger Mehrerfolge die große Mühe der Anreicherung mit einem der beiden Verfahren sich nicht recht lohnt. Folgende Zahlen beweisen dies:

Untersucht wurden im ganzen wahllos so, wie sie dem Institut gerade zugehen,	1010 Sputa;
davon waren im Ausstrich, Perhydrolverfahren und im Antiforminverfahren positiv	295 Sputa;

nur in der Anreicherung mit Antiformin waren positiv	6 Sputa;
nur im Perhydrolverfahren war positiv	1 Sputum;
nur im Ausstrich war positiv	0 Sputum;
nur im Ausstrich und im Antiforminverfahren war positiv	1 Sputum;
nur im Perhydrol- und im Antiforminverfahren waren positiv	8 Sputa.

Um zu sehen, ob die neuerdings im Uhlenhuth'schen Institut ausgearbeitete Anwendungsweise des Antiforminverfahrens von Hundeshagen Besseres leistet, habe ich Nachprüfungen des Verfahrens vorgenommen. Die Vorschrift Hundeshagens wurde dabei genau innegehalten. Gewöhnlich versetzte ich nur 1 Teil Sputum mit 1 Teil 10-proz. Antiformins, was zur Auflösung des Sputums meistens ausreichte. Wo hingegen das Sputum auch nach kräftigem Schütteln und längerem Stehenlassen noch fadenziehende Konsistenz hatte, wurde Antiformin nachgegossen. Es war frisch bezogen direkt vom Hersteller und hatte leichten Chlorgeruch; zur Verminderung des spezifischen Gewichts erfolgte nach der Homogenisierung eine Zugabe von der gleichen bis doppelten Menge destillierten Wassers, darauf wurde mindestens eine halbe Stunde zentrifugiert. Besonderer Wert wurde auch auf das Austrocknen des Sediments gelegt. Der damit beabsichtigte Zweck ließ sich meist erreichen; denn nur in ganz seltenen Ausnahmefällen haftete der Sedimentausstrich nicht gut; jedoch erschien er dann, nur makroskopisch betrachtet, abgewaschen, während durch das Mikroskop fast immer Spuren gefunden werden konnten. Der Bodensatz war in der Regel in seiner Quantität gering und konnte in seiner Gesamtmenge auf den Objektträger aufgetragen werden. War manchmal das Sputum verunreinigt, so gab es dann auch mehr Bodensatz, das mikroskopische Präparat zeigte alle möglichen Beimengungen von Substanzen, die dem Antiformin widerstanden hatten. Nicht geeignet zur Untersuchung erwiesen sich regelmäßig Blut enthaltende Sputa, und zwar aus folgendem Grunde: Da nach Uhlenhuth's Versuchen Blut bei Behandlung mit Antiformin lackfarben und gallertig wird, kann mit Blut gemischtes Sputum nicht vollständig verflüssigt werden, so daß die Aufschließung der Tuberkelbazillen nur ungenügend vonstatten gehen kann. Außerdem erschweren die lackfarbenen, bräunlichen Blutbestandteile die Erkennung der darin liegenden rotgefärbten Tuberkelbazillen ganz erheblich.

Der Originalausstrich wurde mit Glasstäben so dick als möglich hergestellt, während der Sedimentausstrich in verschiedener Dicke mit der Platinöse aufgetragen wurde.

Ein Wort ist hier noch über die Färbung der Präparate zu sagen. Hundeshagen macht in seinem Aufsatz darauf aufmerksam, daß viele negative Befunde bei doch positiven Sputis auf zu wenig intensiver Färbung der Bazillen beruhen. Dieser Fehler lasse sich bei der Anwendung der von Krönig eingeführten maximalen Färbung vermeiden. Sie bestehe in mehrmaligem Aufkochen- und Einwirkenlassen des Karbolfuchsin. Die verschiedenen Bazillenstämme zeigten eine wechselnd gute Färbbarkeit, manche seien überhaupt nur schwer zu färben. Ich habe, diesen Beobachtungen entsprechend, meine Präparate 1–2 Min. lang unter ständigem Kochenlassen des Karbolfuchsin gefärbt. Die Bazillen hatten daher meist eine dunkelrote Farbe angenommen, nur manchmal waren sie etwas heller. Andere Bestandteile, die bei dieser

intensiven Färbung trotz längerer Entfärbung mit Salzsäurealkohol ihr rotes Aussehen teilweise behalten hatten, ließen sich durch ihre Form von den Tuberkelbazillen leicht unterscheiden.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen sind nun folgende:

Von 328 Sputis waren 100 positiv, das sind 30,5 Proz. (Der Prozentsatz der positiven Sputa im hiesigen Institut war 1918 : 24,9 Proz.; 1917 : 17,1; 1916 : 16,0. Die Unterschiede hängen natürlich von der Art des Materials, nicht von der immer gleich gebliebenen Untersuchungsweise ab.) Von diesen 100 positiven Sputis waren 85 sowohl im Ausstrich als auch in der Anreicherung, 15 (das sind 4 Proz. aller untersuchten Sputa) dagegen nur in der Anreicherung positiv. In einem Präparat fand sich nur ein einziger Tuberkelbazillus, bei 2 Präparaten konnte man im Zweifel sein, ob die gefundenen, wegen ihrer unregelmäßigen Form nicht ohne weiteres als Tuberkelbazillen anzusprechenden Stäbchen auch wirklich Tuberkelbazillen waren. Ein Vergleich vom gewöhnlichen Ausstrich mit der Anreicherung zeigte mir deutlich, daß in den meisten Fällen in dieser die Bazillenzahl größer war, nur wenige Präparate hatten etwa den gleichen Bazillengehalt in Ausstrich und Anreicherung, und nur in einem Präparat zeigte der Ausstrich mehr Bazillen als die Anreicherung. Es sei bemerkt, daß das Sputum dieses Präparates Blutbeimengungen hatte. Ich habe blutige Sputa aus oben angeführtem Grunde später nicht mehr untersucht.

Es geht aus den Versuchen also klar hervor, daß man in der Mehrzahl der Präparate bei dem Hundsagenschen Sedimentverfahren von einer wirklichen „Anreicherung“ sprechen kann, und schon aus diesem Grunde verdient sie, beibehalten zu werden. Es genügt in der Regel ein Blick auf eine Stelie der Anreicherung, um sagen zu können, ob das betreffende Sputum positiv war, während man bei dem gewöhnlichen Ausstrich oft minuten-, ja viertelstundenlang und länger suchen mußte. Ich bin deshalb stets so verfahren, daß ich den Sedimentausstrich zuerst betrachtete; so hatte ich dann immer einen Anhaltspunkt, ob ich im Originalausstrich Bazillen zu vermuten hatte oder nicht.

Eine andere Frage ist nun die: Wird durch das Antiformin-Sedimentverfahren das Auffinden von Bazillen (es kann sich dabei nur um Sputa mit geringem Bazillengehalt handeln) überhaupt erst ermöglicht und in wieviel Fällen? Die Zahlenangaben in der Literatur sind ganz verschieden. Manche Untersucher geben 14 Proz., manche gar 34–35 Proz. an. So sehr diese Zahlen auch auseinandergehen, braucht der Unterschied doch nicht wunderzunehmen; denn die Feststellung einer einwandfrei gültigen Zahl ist, vorausgesetzt, daß eine solche sich überhaupt ermitteln läßt, kein einfaches Rechenexempel, wo alle Faktoren gegeben sind, vielmehr sind diese Faktoren außerordentlich wechselnd und hängen von großen Zufälligkeiten ab. Der eine Untersucher erhält nur stark positive Sputa geliefert, wie etwa aus Tuberkulosekrankenhäusern mit schweren Fällen. Das Ergebnis wird dann sein, daß schon in dem gewöhnlichen Originalausstrich sehr viele Bazillen enthalten sind, und sich so von vornherein eine Anreicherung erübrigen würde. Ein zweiter Untersucher erhält vorwiegend negative Sputa, ein dritter bekommt Material mit verschiedenem Bazillengehalt zur Beobachtung, darunter auch viel solche Sputa, die nur wenig Bazillen haben. Es ist klar, daß die Zahl der positiven Anreicherungen bei negativem Ausstrich des letzteren Untersuchers höher sein muß als bei den ersten beiden. Ferner hängt viel davon ab, ob man bei der Anfertigung des Original-

ausstriches gerade eine solche Stelle herausgreift, die bazillenhaltig ist. Endlich kann es auch dem besten Untersucher bei aller angewendeten Sorgfalt passieren, daß ihm bei der mikroskopischen Betrachtung Bazillen entgehen, während ein zweiter Untersucher schon beim ersten Blick ins Mikroskop auf die Erreger stößt. Es gehört eine glückliche Hand und ein glückliches Auge dazu, das zu finden, was man sucht. Ich behaupte daher auch nicht, daß man immer, wie gerade bei meinen Untersuchungen, einen Mehrerfolg im Verhältnis von 100:85 haben müsse. vielmehr ist meiner Ansicht nach eine bestimmte Norm überhaupt nicht aufzustellen.

Trotz alledem ist es sicher — ich habe diesen Eindruck aus meinen Versuchsergebnissen gewonnen —, daß nicht ganz selten in praxi durch ein gutes Anreicherungsverfahren, wie das Uhlenhuth-Hundeshagensche es darstellt, das Auffinden von Bazillen erst möglich wird. Die Anreicherung hat auch aus diesem Grunde ihren großen Wert und ist bei jedem negativen Originalausstrich immer anzuwenden, um so auch in frühen, als infektiös noch nicht erkannten Fällen mit spärlicher Bazillenausscheidung schon wegen der einzuschlagenden Prophylaxe kein Mittel unversucht zu lassen, zu einer klaren Diagnose zu gelangen.

Der berechtigte Vorwurf Brauers, das Uhlenhuthsche Originalverfahren sei wegen des umständlichen Waschens des Sediments zu zeitraubend, wird durch Hundeshagen zunichte gemacht, indem dieser auf das Waschen verzichtet und statt dessen ein gründliches Austrocknenlassen vorschlägt. Die Zeitersparnis ist eine ganz bedeutende auf diese Weise, wie mir meine Beobachtungen gezeigt haben. Ich habe jedesmal 8 Sputa nebeneinander behandelt, und zwar 8 deswegen, weil mir 2 elektrische Zentrifugen mit je 4 Gehängen zur Verfügung standen. Alles in allem eingerechnet, die Herstellung des Originalausstriches, die Auflösung des Sputums, das Zentrifugieren, das Trocknen und Auftragen des Sediments, das Färben und die genaue Durchsicht, habe ich zu den erwähnten 8 Präparaten 4—5 Std. gebraucht. Dazu ist aber zu bemerken, daß ich, um mir ein genaues Urteil bilden zu können, zur Durchsicht des gewöhnlichen Ausstrichs allein mindestens 10 Min. verwenden mußte. Nachdem nun die Versuche ergeben haben, daß in der Anreicherung stets wenigstens gleichviel, in der Regel aber mehr Bazillen vorhanden sind als im Ausstrich, ist eine genaue Durchmusterung desselben nicht mehr nötig, vielleicht kann man davon überhaupt absehen und so viel Zeit ersparen. Es kämen dann bei Beachtung dieses Punktes auf ein Präparat höchstens eine Viertelstunde, bei Verkürzung der Schleuderzeit (wovon alsbald die Rede sein wird) sogar noch weniger Zeit. Anders dagegen, wenn nur in einem Sputum festgestellt werden soll, ob es Tuberkelbazillen enthält. Ich habe zur Fertigstellung und Durchsicht eines einzelnen Präparates  $1\frac{1}{2}$ —2 Std. gebraucht, konnte aber während des Zentrifugierens mich mit anderen Dingen beschäftigen, wogegen ich im oben erwähnten Fall während des Schleuderns der ersten 4 Sputa die andern 4 in Angriff nehmen konnte.

Hundeshagen schreibt ein halbstündiges Zentrifugieren des Antiformin-Sputumgemisches vor. Das ist zeitraubend und bei mechanischem Antrieb der Zentrifuge auch kostspielig. Ich habe mir deshalb die Frage vorgelegt, ob man nicht mit kürzerem Schleudern, etwa 5 Min. lang, auskommt. Zur Entscheidung dieser Frage teilte ich einige Sputumaufösungen, von denen ich wußte, daß sie Bazillen enthielten, in gleiche Teile und schleuderte dann 5 Min. und eine viertel

Stunde lang. Es zeigte sich nun, daß die länger geschleuderten Sedimente mehr Bazillen aufwiesen als die kürzer geschleuderten. Demnach wäre ein mindestens viertelstündliches Zentrifugieren erforderlich zu einem guten Erfolg. Auf ein gründliches Zentrifugieren legt auch Thilenius Wert, der Versuche in diesem Sinne angestellt hat.

Zusammenfassend, hat nach meinen Versuchen die von Hundeshagen ausgearbeitete Modifikation des Uhlenhuthschen Anreicherungsverfahrens mittels Antiformins sich sehr brauchbar erwiesen, denn man erreicht mit ihr gegenüber dem Originalausstrich fast in allen Fällen eine bedeutende Einengung der Tuberkelbazillen, wodurch die Untersuchung erheblich erleichtert, verkürzt und genauer wird. Nicht selten läßt sich durch ihre Anwendung ein Sputum noch als positiv nachweisen, welches im Originalausstrich negativ war. Ihre Ausführung ist einfach und führt in kurzer Zeit zum Ziel, ist aber nur für Institute zu empfehlen, die eine größere Anzahl Sputa zu untersuchen haben und über mehrere Zentrifugen verfügen, da das Schleudern, welches mindestens  $\frac{1}{4}$  Stunde zu dauern hat, sich nur bei gleichzeitiger Untersuchung vieler Sputa lohnt, und so das Verfahren erst verkürzt wird. Ein Nachteil der Methode ist es, daß blutige Sputa bei der zu verwendeten hohen Antiforminkonzentration zur Untersuchung nicht geeignet sind, und gerade der blutige Auswurf enthält sehr oft Tuberkelbazillen.

Kurz nach dem Erscheinen der Hundeshagenschen Arbeit berichtet Heinrich Vogelbach aus dem Uhlenhuthschen Institut über „Vergleichende Untersuchungen über das Antiforminverfahren und einige neuere Anreicherungsverfahren zum Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum“. Auch dieser Untersucher äußert sich über die Uhlenhuth-Hundeshagensche Methode sehr befriedigt und gibt ihr den Vorzug vor den meisten anderen Anreicherungsverfahren.

#### Schrifttum.

- Abel, Bakteriolog. Taschenbuch. Würzburg 1919.  
 Brauer, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 10.  
 Ditthorn u. Schultz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. H. 1.  
 Engelsmann, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 1.  
 Hundeshagen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. H. 1.  
 Hüne, Hyg. Rundsch. 1908. Nr. 18.  
 Kawai, Med. Klin. 1910. Nr. 4 u. 5.  
 Lange u. Nitsche, Deutsch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 10.  
 Loeffler, Deutsch. med. Wochenschr. 1910. S. 1987.  
 Lorenz, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. S. 118.  
 Sachs-Mücke, Deutsch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 7.  
 Scheven, E. v., Deutsch. med. Wochenschr. 1909. S. 1617.  
 Schmitz u. Brauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 359.  
 Schulte, Med. Klin. 1910. Nr. 5.  
 Tätigkeitsberichte der Untersuchungsämter aus den Jahren 1908—1916, Hyg. Rundschau 1909—1917.  
 Uhlenhuth, Bericht über die IV. Versammlung der Tub. Aerzte 25. u. 26. Mai 1909.  
 Uhlenhuth-Xylander, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 32. 1909.  
 Vogelbach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. H. 1.



*Nachdruck verboten.*

# Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

## XXIII. Mitteilung <sup>1)</sup>.

**(Hufkrebs-Geschwulst. — Botryomykom. — Plexus-Cholesteatom.  
— Melanosarkom des Auges und Gliosarkom des Auges.)**

Von Dr. E. Saul, Berlin.

Mit 14 Figuren im Text.

Bei früherer Gelegenheit konnte ich zeigen (vgl. XXI. und XXII. Mitteilung), daß die blastomatöse Reizung als parthenogenetische Entwicklungserregung fixer Gewebelemente zu definieren ist, weil sie in Abwesenheit des Reizes, der sie ausgelöst hat, fortwirkt.

Da wir den Begriff der Parthenogenese nur auf die ungeschlechtliche Entwicklungserregung der Geschlechtszellen zu beziehen pflegen, so ergibt sich die Frage: Existieren in der Physiologie der Organismen Erfahrungen, welche lehren, daß somatische Zellen einer Entwicklungserregung fähig sind, die derjenigen der Geschlechtszellen analog erscheint? Dies ist in der Tat der Fall. Zum Beispiel können die Spongien ihren Organismus durch Entwicklungserregung somatischer Zellen total reproduzieren. Und zwar sind die Spongien, die aus somatischen Zellen hervorgehen, von den aus Geschlechtszellen entstandenen Spongien in keiner Weise verschieden.

Bekanntlich gipfelt der Unterschied der somatischen Zellen und der Geschlechtszellen im allgemeinen darin, daß die letzteren eine Chromosomenzahl zeigen, die von der Chromosomenzahl somatischer Zellen um das Doppelte übertroffen wird. Jedoch ist bei den Tieren, die sich parthenogenetisch vermehren, die Zahl der Chromosomen, die in den Geschlechtszellen gefunden wird, identisch mit der Chromosomenzahl somatischer Zellen. Es können sich also auch im letzten Unterscheidungsgrund die somatischen Zellen wie Geschlechtszellen verhalten.

Wie ich bereits in meiner XXI. Mitteilung erörterte, gehen bei dem Menschen und bei Tieren aus der parthenogenetischen Entwicklungserregung der Geschlechtszellen Konglomerate pathologischer Organe hervor, die wir als Dermoide <sup>2)</sup> oder als Teratoide <sup>3)</sup> bezeichnen, während durch die parthenogenetische Entwicklungserregung somatischer Zellen bei dem Menschen und bei Tieren im allgemeinen ein einheitliches pathologisches Organ hervorgerufen wird, das wir Tumor nennen. Jeder Tumor erscheint entweder als Anhangsgebilde des Mutterorganes oder als Einschlußgebilde desselben, oder, falls der Tumor metastasiert, als Vervielfältigung des Mutterorganes. Was die von Wilms <sup>3)</sup> beschriebenen Mischgeschwülste betrifft, so ist für ihre genetische Erklärung die Beobachtung entscheidend, daß sie in ihrem Bau mit den normalen Differenzierungsvorgängen der Körperregion übereinstimmen, aus der sie stammen. Wir müssen daher folgern, daß diese Mischgeschwülste

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 20 usw..

2) Die Dermoide verhalten sich zu den Teratoiden wie die Fibrome zu den Sarkomen oder wie die Adenome zu den Karzinomen. Vgl. Verhandl. der Deutschen Gesellschaft. f. Gynäkol. Bd. 7. 1897.

3) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 55. 1897.

durch parthenogenetische Entwicklungserregung somatischer Zellen hervorgerufen werden, die während der ontogenetischen Entwicklung des Individuums, ähnlich den Geschlechtszellen, die Fähigkeit bewahrt haben, verschiedenartige Gewebe hervorzubringen. Diese Fähigkeit wird in der Entwicklungsmechanik relative Totipotenz genannt.

Die gegebenen Darlegungen leiten unseren Blick zu Johannes Müller<sup>1)</sup> zurück, der als erster die grundlegende These verkündete: Für die Entwicklung der Tumoren gelten dieselben Gesetze, nach denen der Embryo sich bildet. Die Entwicklungserregung der Tumormutterzelle ist analog der Entwicklungserregung der Eizelle.

An der Hand der folgenden Abbildungen möchte ich erläutern:

- 1) die Aetiologie und Biologie der Hufkrebsgeschwulst (Pferd).
- 2) " " " " des Botryomykoms (Pferd).
- 3) " " " " cerebralen Plexus-Cholesteatoms (Mensch).
- 4) " " " " Melanosarkoms und Gliosarkoms (Auge). (Mensch.)



Fig. 1.

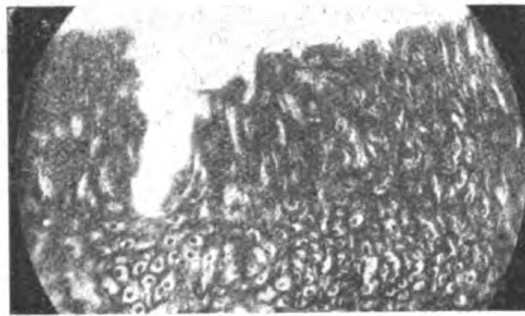


Fig. 2.

Fig. 1. Schnittpräparat einer Hufkrebsgeschwulst (Pferd). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:25.

Man erkennt im Uebersichtsbild, daß die Hufkrebsgeschwulst aus Wucherungen des Papillarkörpers der Cutis und aus Wucherungen des Epidermisepithels resultiert. Hauptsächlich ist an dem tumorbildenden Prozeß der Papillarkörper der Cutis beteiligt. Daher müssen wir die Hufkrebsgeschwulst als Fibroepitheliom bezeichnen; sie entspricht in ihrer histologischen Struktur und ihrem klinischen Charakter im allgemeinen dem Condyloma acuminatum des Menschen (vgl. XXII. Mitteil.).

Die Papillen der Hufkrebsgeschwulst sind in ihrer Höhe und Verzweigung außerordentlich entwickelt; ähnlich verhalten sich die Papillen im Gebiete des Condyloma acuminatum. Die Cutispapillen der Hufkrebsgeschwulst sind gegen die Epidermis scharf begrenzt. Die einzelnen Strata der Epidermis können im Uebersichtsbild nicht voneinander unterschieden werden.

Die Hufkrebsgeschwulst besitzt, ebenso wie das Condyloma acuminatum, die Eigenschaft, rapid zu wachsen und zu rezidivieren; ebenso wie das Condyloma acuminatum zeigt die Hufkrebsgeschwulst keine

1) Müller, Johannes, Ueber den feineren Bau und die Formen der krankhaften Geschwülste. Berlin 1838.

Fähigkeit, infiltrierend oder metastasierend zu wachsen; ebenso wie bei dem *Condyloma acuminatum*, wird bei der Hufkrebsgeschwulst eine spontane Rückbildung niemals beobachtet.

Fig. 2. Dasselbe Präparat in stärkerer Vergrößerung. 1:150.

Das Gesichtsfeld zeigt denjenigen Teil der epidermidalen Decke der Hufkrebsgeschwulst, der hauptsächlich dem Stratum corneum entspricht. Man erkennt, daß im Gebiete der Hufkrebsgeschwulst das Stratum corneum normal entwickelt ist; ebenso verhält sich das Stratum corneum des *Condyloma acuminatum*. Unter Einwirkung von Mazerationsprozessen kann das Stratum corneum der Hufkrebsgeschwulst verschwinden, so daß das Stratum granulosum und Stratum lucidum frei zutage treten. Die Bedingungen für Mazerationsprozesse sind bei der Hufkrebsgeschwulst immer gegeben, weil der Huf des Pferdes unbekleidet ist. Bei dem *Condyloma acuminatum* des Menschen beobachten wir die Mazeration des Stratum corneum nur in den Fällen, wo es auf feuchten Flächen, zum Beispiel auf der feuchten Fläche des Sulcus coronarius, sich entwickelt.

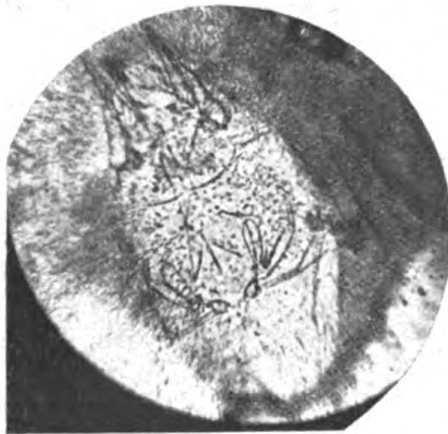


Fig. 3.

Fig. 3. *Tarsonemus*-Milbe (weiblich), aus einer Hufkrebsgeschwulst isoliert. Das Präparat ist weder fixiert, noch gefärbt. Vergrößerung 1:550.

Die weiblichen Milben der Gattung *Tarsonemus* sind durch die rudimentäre Entwicklung des 4. Beinpaars als parasitische Milben charakterisiert. Von den bekannten *Tarsonemus*-Arten unterscheidet sich die vorliegende, neue Spezies durch die äußerst schwache Entwicklung des 4. Beinpaars, das nur mit den Endborsten über den Rand des Hinterleibes hervorragt. Auch ist die neue *Tarsonemus*-Art durch den langen, dünnen, zweigliedrigen Endteil des 3. Beinpaars gekennzeichnet, der

von dem dicken Basalteil durch eine scharfe Grenze geschieden wird. Endlich ist der neuen *Tarsonemus*-Art die Richtung der Chitinleisten eigentümlich, die an der Bauchseite der Milbe erscheinen. — In der Pflanzenpathologie sind Milben als Geschwulsterreger seit langer Zeit anerkannt. Daß sie auch für die Geschwulstetiologie des Menschen und der Tiere in Betracht kommen, lehrt zum Beispiel eine Veröffentlichung aus dem Heidelberger Krebsinstitute. Hier berichtet Ascher (Arch. f. Dermat. 1910. Nr. 101. S. 211) über eine Milbenendemie bei Ratten. Die befallenen Tiere erkrankten an papillomatösen Tumoren, denen sie unter kachektischen Symptomen erlagen. Mittels der infizierten Käfige konnten die Geschwülste der Ratten willkürlich hervorgerufen werden. — Was die Hufkrebsgeschwulst betrifft, so ist es bisher nicht gelungen, sie experimentell von Pferd zu Pferd zu übertragen. Einen derartigen Mangel experimenteller Uebertragbarkeit beobachten wir gelegentlich auch bei anderen Krankheiten, die durch Milben hervorgerufen werden; es sei nur an die *Acarus*-Räude der Hunde erinnert. In dieser Beziehung berichtet der Veterinärpathologe Schindelka<sup>1)</sup>, wie folgt: „Ueber die Art und Weise, wie die Hunde die *Acarus*-Räude erwerben, ist nichts

1) Handb. der tierärztl. Chirurgie. 1903. Bd. 6. S. 70 ff.

mit voller Sicherheit bekannt. . . . Das Zustandekommen der Ansteckung scheint auf einer besonderen Disposition zu beruhen. . . . Künstliche Uebertragungsversuche gelingen nur ausnahmsweise.“

Wie bereits in meiner XX., XXI. und XXII. Mitteilung dargelegt wurde, beruht der Gegensatz zwischen entzündlicher und blastomatöser Reizung nicht auf Verschiedenheiten der Aetiologie, sondern auf Verschiedenheiten der biologischen Reaktion. Es entspricht dieser Auffassung, daß scharfe Grenzen zwischen entzündlichen Neubildungen und Blastomen nicht bestehen, wie bereits Virchow bekundet hat. (Vgl. die krankhaften Geschwülste 1864—1865; Bd. 2. S. 159 u. 182.) Als Typus der Tumoren, die den Charakter der entzündlichen Granulome und den Charakter der gutartigen und bösartigen Blastome in sich vereinigen, können die Botryomykome der Pferde betrachtet werden.

Fig. 4. Schnittpräparat eines Euterbotryomykoms (Pferd). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

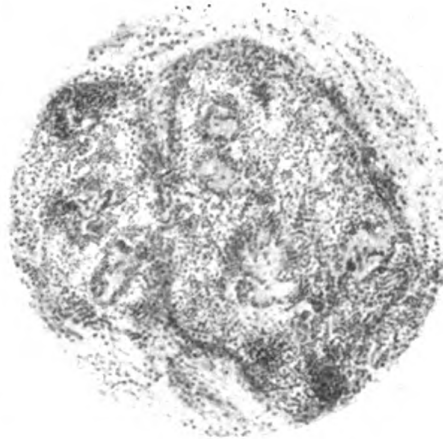


Fig. 4.

Man unterscheidet im Uebersichtsbild die Bindegewebshülle des Botryomykoms, die große Aggregate von Rundzellen (Leukozyten und Lymphozyten) umschließt. Der betreffende Teil des Botryomykoms zeigte den Charakter eines abszedierenden Granuloms. Die Bindegewebshülle des Euterbotryomykoms geht aus dem Stroma des erkrankten Euters hervor, während der sezernierende Teil des Euters durch die Toxine des Botryomyces-Pilzes völlig zerstört ist. Zwischen den Massen der Rundzellen erkennt man die gelappten Konturen der Botryomyces-Rasen; sie stellen hauptsächlich Zoogloeen von Staphylokokken dar, die Bollinger<sup>1)</sup> im Jahre 1870 als Erreger der Botryomykome beschrieben hat. Die Botryomyces-Rasen erscheinen nach der Aufhellung mit Kalilauge als runde Gebilde, die von einer doppelt konturierten, glänzenden Membran eingehüllt werden. Nach der Gieson-Färbung sind die Botryomyces-Rasen gelb oder rot.

Fig. 5. Botryomyces-Rasen in stärkerer Vergrößerung. 1:100.

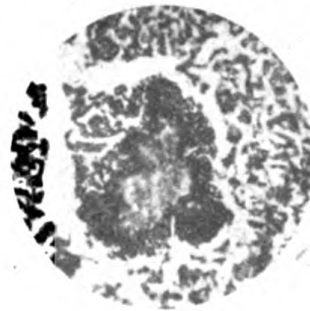


Fig. 5.

Das Gesichtsfeld zeigt einen einzelnen Botryomyces-Rasen. Der zentrale Teil desselben wird von einer Gallertmasse gebildet, in welche Botryomyces-Kokken eingebettet liegen. Wie Conrad<sup>2)</sup> gezeigt hat, geht die Gallertmasse der Botryomyces-Rasen aus zerstörten Eiterkörperchen hervor, während der homogene, periphere Teil der Botryomyces-Rasen von zusammengesinterten, degenerierten Botryomyces-Kokken gebildet wird. Aus Botryomykomen wurde sowohl der

1) Virchows Arch. Bd. 49. 1870. S. 583 ff.

2) Inauguraldissert. Gießen. 1916. S. 37.



*Staphylococcus albus*, als auch der *Staphylococcus aureus* gezüchtet. Da es bisher nicht gelungen ist, mit diesen Mikroorganismen das Botryomykom experimentell hervorzurufen, so dürften die Kokken, welche die Botryomyces-Rasen bilden, eine Sonderart von Mikroorganismen darstellen, deren Kultivierung bisher nicht gelungen ist.

Fig. 6. Schnittpräparat eines Euterbotryomykoms (Pferd). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:150.

An diesem Teile zeigt das Botryomykom den Charakter eines zellenarmen Fibroms. Erfahrungsgemäß sind die fibromatösen Teile der

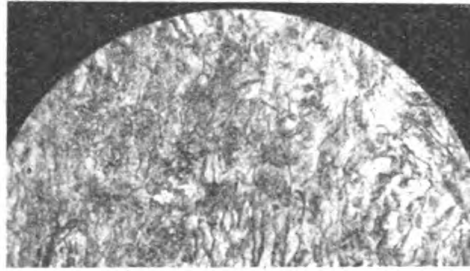


Fig. 6.

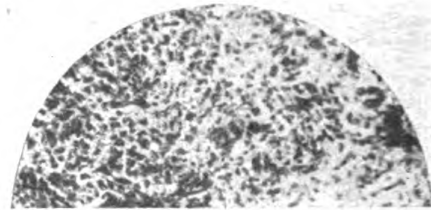


Fig. 7.

Botryomykome frei von Botryomyces-Rasen. Bei Abwesenheit der letzteren ist es unmöglich, auf Grund der mikroskopischen Untersuchung die Aetiologie der Botryomykome zu erkennen; sie imponieren dann als Fibrome unbekannter Aetiologie, die in ihrer Struktur Aehnlichkeit mit Narbengewebe besitzen.

Fig. 7. Schnittpräparat eines Euterbotryomykoms (Pferd). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:150.

Im Gesichtsfeld erscheint derjenige Teil des Botryomykoms, der sarkomatösen Charakter zeigt. Denn nach der Definition Virchows dürfen wir jede Binde substanzgeschwulst zu den Sarkomen rechnen, in der die Zellen gegenüber der Interzellularsubstanz überwiegen. Auch die sarkomatösen Teile der Botryomykome sind erfahrungsgemäß frei von Botryomyces-Rasen. Der formative Reiz, den das Gift der Botryomyces-Kokken besitzt, zeigt also in dem sarkomatösen wie in dem fibromatösen Teile der Botryomykome die Eigenschaft, in Abwesenheit der Botryomyces-Kokken formativ fortzuwirken. Diesen Vorgang habe ich parthenogenetische Entwicklungserregung fixer Gewebselemente genannt.

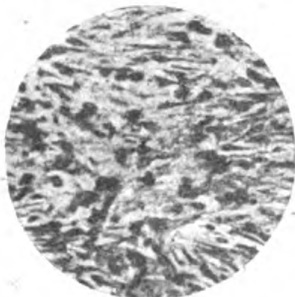


Fig. 8.

Fig. 8. Schnittpräparat eines Euterbotryomykoms (Pferd). In starker Vergrößerung. 1:350. Gieson-Färbung.

Die Abbildung zeigt die diffuse Anordnung der Zellen des Botryomykoms, wie sie bei den Sarkomen gefunden wird; und zwar handelt es sich um Rundzellen und Spindelzellen verschiedener Größe, auch erscheinen im Gesichtsfeld Gruppen von Riesenzellen.

Von der Veterinärpathologie komme ich zu der Humanpathologie. Gemäß den in meiner XXII. Mitteilung geführten Erörterungen werden die cerebralen Plexus-Cholesteatome zu Unrecht Cholesteatome genannt, weil nach dem Vorgange von Johannes Müller als Cholesteatome

lediglich epitheliale Neubildungen zu bezeichnen sind, die Cholesterinkristalle enthalten. Die cerebralen Plexus-Cholesteatome resultieren jedoch aus Blutthromben oder Lymphthromben, die Cholesterinkristalle enthalten; aus ihnen geht nach erfolgter Organisation der Thromben das Granuloma cholesteranicum hervor. Da in meiner früheren Mitteilung lediglich auf die cerebralen Plexus-Cholesteatome der Pferde Bezug genommen wurde, so lag Veranlassung vor, auch menschliche Plexus-Cholesteatome in den Kreis der Untersuchung zu ziehen. Gemäß der Seltenheit der letzteren stand mir nur ein Fall von cerebralem Plexus-Cholesteatom des Menschen zur Verfügung.

Fig. 9. Schnittpräparat eines cerebralen Plexus-Cholesteatoms (Mensch). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Das Uebersichtsbild lehrt, daß das cerebrale Plexus-Cholesteatom des Menschen sich aus strukturlosen, geronnenen Strängen zusammensetzt; es entspricht in seinem Bau dem cerebralen Plexus-Cholesteatom der Pferde. (Vgl. XXII. Mitteil.)

Die Intervalle zwischen den Strängen des Plexus-Cholesteatoms sind in vivo mit Cholesterinkristallen ausgefüllt, wie an Gefriermikrotomschnitten nachgewiesen werden kann. Nach der Einbettung in Paraffin oder Celloidin ist das Cholesterin in den Präparaten nicht mehr vorhanden, weil es sich sowohl in Alkohol wie in Xylol löst. Der Veterinärpathologe Joest<sup>1)</sup> hat hervorgehoben, daß die Hülle des Plexus-Cholesteatoms von der Wandung eines thrombosierte Gefäßes gebildet wird, und zwar kann es sich um ein thrombosierte Blutgefäß oder um ein thrombosierte Lymphgefäß handeln. In dem vorliegenden Falle erschienen sowohl in der Hülle des Plexus-Cholesteatoms wie innerhalb der Thrombenstränge, die dasselbe zusammensetzen, und in den Intervallen zwischen den letzteren zahlreiche



Fig. 9.

Erythrocyten. Adventitia, Media und Intima konnten in der Hülle dieses Plexus-Cholesteatoms nicht deutlich unterschieden werden, insbesondere wurde die Intima vermißt. In der Schicht, welche der Adventitia entspricht, zeigt die Wand des Plexus-Cholesteatoms den Querschnitt eines Vas vasorum. Die Intervalle zwischen den Strängen des Thrombus entsprechen in ihrer Konfiguration den rhombischen Formen der Cholesterinkristalle, die in den Intervallen lagen. Da wir eine so erhebliche Ausscheidung von Cholesterin bei Erkrankungen anderer Gefäßgebiete nicht wahrnehmen, so müssen wir folgern, daß sie durch den Chemismus des Plexusgewebes bedingt wird, wie ich in meiner XXII. Mitteilung bereits dargelegt habe. Es ist hervorzuheben, daß in der Humanpathologie auf die cerebralen Plexus-Cholesteatome fast niemals Bezug genommen wird. Orth<sup>2)</sup> bezeichnet sie als umschriebene, ödematöse Schwellungen des Bindegewebes. Diese Deutung kann weder mit den Befunden des Veterinärpathologen Joest, noch mit meinen eigenen Befunden in Einklang gebracht werden.

1) Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 18. 1915.

2) Patholog.-anatom. Diagnostik. Berlin 1909. S. 124.

In Ausstrichpräparaten des menschlichen cerebralen Plexus-Cholesteatoms konnten, ebenso wie in denjenigen des Pferdes, Kokken nachgewiesen werden, die in Diploformen angeordnet sind oder kurze Ketten bilden (vgl. XXII. Mitteilung). Demgemäß dürfte bei den menschlichen Plexus-Cholesteatomen, ebenso wie bei den Plexus-Cholesteatomen der Pferde, die Arteriitis bzw. Phlebitis oder Lymphangitis, die den Plexus-Cholesteatomen zugrunde liegt und die konsekutive Cholesterinausscheidung und Thrombose durch Streptokokkeninfektionen hervorgerufen werden. In diesem Zusammenhange möchte ich hervorheben, daß erfahrungsgemäß in kleinen Arterien, kleinen Venen und kleinen Lymphgefäßen schon bei geringfügigen, pathologischen Veränderungen der Gefäßwand — mögen die Veränderungen durch parasitische Gifte, durch präformierte Gifte oder durch Stoffwechselgifte des Kranken hervorgerufen werden, Thrombosen entstehen.

Wie ich bereits in meiner XXII. Mitteilung erörterte, finden wir in allen Fällen, wo Tumoren durch exogene Ursachen hervorgerufen werden,

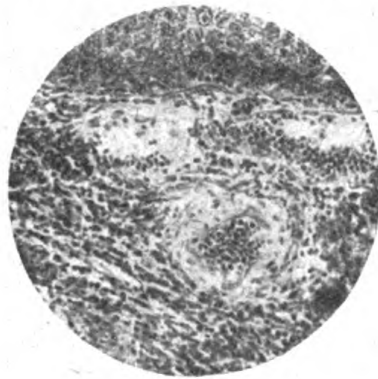


Fig. 10.

seien sie parasitärer oder nicht parasitärer Natur, daß die Tumoren aus der Kombination entzündlicher und blastomatöser Reizung resultieren. Dagegen konstatieren wir bei Tumoren die durch Stoffwechselprodukte des Tumorträgers verursacht werden, daß sie frei von entzündlichen Erscheinungen sind, wie das Beispiel des Xanthoma glycosuricum, sowie dasjenige des Xanthoma cholesterinicum lehren. Der gegenwärtige Stand der Stoffwechselchemie gestattet uns nicht, in allen Fällen, wo endogene Ursachen für die Tumoriologie in Frage kommen, den Kausalnexus zwischen Tumorgenese und Stoffwechsel des Tumorträgers chemisch zu

erkennen. Wir sind daher in den betreffenden Fällen zurzeit genötigt, den ätiologischen Zusammenhang zwischen Tumor und Stoffwechsel des Tumorträgers auf Grund eines Analogieschlusses zu folgern. Als hervorragende Beispiele von Tumoren, für deren Aetiologie Stoffwechselprodukte des Tumorträgers in Betracht kommen, weil sie frei von entzündlichen Erscheinungen, und weil exogene Ursachen für dieselben nicht in Betracht zu ziehen sind, können das Melanosarkom des Auges sowie das Gliosarkom des Auges bezeichnet werden. Ersteres nimmt bekanntlich seinen Ursprung von den Pigmentzellen der Chorioidea, bzw. denjenigen der Iris, während das Gliosarkom des Auges aus den Gliazellen der Retina hervorgeht.

Fig. 10. Schnittpräparat eines Melanosarkoms der Chorioidea des Auges (Mensch). Hämatoxylin-Eosinfärbung. Vergrößerung 1:200.

Im Gesichtsfeld erscheinen das Pigmentepithel der Retina, die Lamina elastica chorioideae und die Zellenmassen des Melanosarkoms der Chorioidea. Die weiten Blutlakunen, die dasselbe vaskularisieren, gestatten eine frühzeitige Metastasierung des Melanosarkoms, da sie einer besonderen Wandung entbehren. Das Melanosarkom des Auges wird am häufigsten zwischen dem 40. und 60. Lebensjahre gefunden. Daher kann die allgemeine Erfahrung, daß Sarkome Erkrankungen des jugendlichen Alters darstellen, für das Melanosarkom des Auges nicht geltend gemacht



werden. Das Melanosarkom der Iris nimmt häufig von Pigment-Naevis der Iris seinen Ursprung. Ich habe bereits in meiner XX. Mitteilung dargelegt, daß Naevi, ebenso wie versprengte Keime und ähnliche Abnormitäten, in hohem Maße disponiert sind, gegen endogene und exogene, tumorerrregende Reize mit Tumorbildung zu reagieren. Für das Melanosarkom der Chorioidea können wir aus topographischen Gründen nicht feststellen, inwieweit es gleichfalls von präexistierenden Pigment-Naevis seinen Ursprung nimmt.

Fig. 11. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:350.

Die Abbildung lehrt, daß das Melanosarkom der Chorioidea sich aus pigmentierten und unpigmentierten Zellen zusammensetzt, obgleich die Mutterzellen des Melanosarkoms ausschließlich Pigmentzellen sind. Es ist daran zu erinnern, daß auch unter physiologischen Verhältnissen die Pigmentproduktion zu denjenigen Zellfunktionen gehört, die sich nicht regelmäßig von Zelle zu Zelle vererben. Wir finden zum Beispiel das physiologische Pigment der Epidermis ausschließlich in dem Stratum

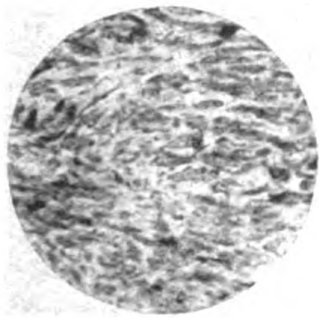


Fig. 11.



Fig. 12.

germinativum, während es im Stratum granulosum, Stratum lucidum und Stratum corneum gänzlich fehlt. Das Stratum germinativum stellt die jüngste Zellenlage der Epidermis dar. Rössle <sup>1)</sup> bekundet daher in seinen Untersuchungen über die Melanosarkome mit Recht, daß die Pigmentierung der Pigmentzellen nicht als Alterserscheinung der Zellen zu deuten sei. Das Pigment des Melanosarkoms der Chorioidea, bzw. der Iris erscheint ebenso wie dasjenige der normalen Chorioidea und dasjenige der normalen Iris in den Pigmentzellen als amorphe Masse.

Fig. 12. Schnittpräparat eines normalen Auges. Hämatoxylin-Eosinfärbung. Vergrößerung 1:250.

Das Gesichtsfeld zeigt das Pigmentepithel der Retina, die Lamina elastica chorioideae, das Stratum choriocapillare, das Stratum vasculosum chorioideae und das Stratum suprachorioideale. Das Pigment der Retina ist kristallinisch, dasjenige der Chorioidea ist amorph. Im übrigen lehrt die Abbildung, daß alle Schichten der Chorioidea Pigmentzellen enthalten, mit Ausnahme des Stratum choriocapillare. Würde das Pigment der Chorioidea von dem Pigmentepithel der Retina stammen und

1) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 2. 1904. S. 326.



von chromatophoren Wanderzellen aus der Retina in die Chorioidea getragen werden, wie einige Autoren behaupten, so müßte das Stratum choriocapillare den reichsten Gehalt an Pigmentzellen besitzen, weil es an das Pigmentepithel der Retina grenzt. Da das Stratum choriocapillare jedoch pigmentfrei ist, so dürfen wir folgern, daß das Pigment der Chorioidea autochthon in den chorioidealen Pigmentzellen entsteht. Im übrigen hat W. Kühne<sup>1)</sup> nachgewiesen, daß der chemische Charakter des Retina-Pigmentes von demjenigen des Chorioidea-Pigmentes verschieden ist. Kühne nannte deshalb das Pigment der Retina: Fuscine, dasjenige der Chorioidea: Melanin. Das Fuscine der Retina erwies sich in den Versuchen Kühnes als außerordentlich lichtempfindlich, so daß es bei Belichtung völlig verschwand, während das Melanin der Chorioidea die Einwirkung des Lichtes ertrug. — Das Pigmentepithel der Retina entbehrt jeder Proliferationsfähigkeit. Daher gehen die Tumoren der Retina niemals aus den retinalen Pigmentzellen hervor; vielmehr sind die Mutterzellen der Retinatumoren ausschließlich retinale Gliazellen.



Fig. 13.

Fig. 13. Schnittpräparat eines Gliosarkoms der Retina. Hämatoxylin-Eosinfärbung. Vergrößerung 1:100.

Man unterscheidet im Uebersichtsbild den Kontur des Tumors, der sich halbkugelförmig über dem Nervus opticus erhebt. Während das Melanosarkom der Chorioidea des Auges eine Erkrankung des höheren Alters darstellt, beobachten wir das Gliosarkom der Retina ausschließlich in der frühesten Jugend. Wintersteiner<sup>2)</sup> konnte aus der einschlägigen Literatur feststellen, daß die Mehrzahl der Kinder, die an Gliosarkom der Retina erkrankt waren, das 3. Lebensjahr noch nicht erreicht hatte. Niemals ist das Gliosarkom der Retina kongenital beobachtet worden. Es handelt sich daher bei der von Klinikern behaupteten Erblichkeit des Gliosarkoms der Retina lediglich um die Erblichkeit der Disposition.

Der Umstand, daß die ererbte Tumorempfindlichkeit in dem Falle des Gliosarkoms der Retina sich auf ein und dasselbe Organ bezieht, erinnert an die Erfahrung, daß zum Beispiel auch Naevi bei den Deszendenten an ein und derselben Körperstelle gefunden werden. Da parasitäre Gifte oder präformierte Gifte für die Aetiologie des Gliosarkoms der Retina, ebensowenig wie für das Melanosarkom der Iris bzw. der Chorioidea, in Betracht kommen, so dürfen wir folgern, daß diese Tumoren durch Stoffwechselgifte des Tumorträgers hervorgerufen werden. Nicht selten sind bei dem Gliosarkom der Retina in der Netzhaut versprengte Keime nachgewiesen worden. Ich habe bereits hervorgehoben, daß derartige Abnormitäten erfahrungsgemäß in hohem Maße disponiert sind, gegen endogene und exogene tumorereizende Reize mit Tumorbildung zu reagieren.

1) Zitiert nach Greeff, Mikroskopische Anatomie des Sehnerven und der Netzhaut. (Graefe-Saemisch, Handb. der ges. Augenheilkunde. 1900. 20. u. 21. Lieferung. S. 95.)

2) Zit. nach Axenfeld (Lubarsch-Ostertag, 3. Jahrg. 2. Hälfte. 1896. S. 671.)

Fig. 14. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:250.

Das Gesichtsfeld lehrt, daß das Gliosarkom der Retina das Gewebe des Nervus opticus infiltriert hat. Die Gliosarkomzellen der Retina gleichen sowohl den Rundzellen der retinalen Körnerschicht, als auch den Rundzellen, die unter normalen Verhältnissen im Nervus opticus gefunden werden. Da der Kliniker nach der Exstirpation des an Gliosarkom erkrankten Bulbus entscheiden muß, ob er den Nervus opticus außerhalb der infiltrierten Zone reseziert hat, so ist hervorzuheben, daß Anhäufungen von Rundzellen in längeren Zügen oder an zirkumskripten Stellen des Nervus opticus, wie sie Fig. 14 zeigt, erfahrungsgemäß als sarkomatöse Infiltrationen des Sehnerven zu deuten sind.

In meinen Mitteilungen über die Aetiologie und Biologie der Tumoren verfolgte ich die Tendenz, an prägnanten Beispielen der Humanpathologie, Veterinärpathologie und Pflanzenpathologie in zusammenfassender Darstellung zu zeigen, daß die Tumoren eine parasitäre und eine nichtparasitäre Aetiologie besitzen. Als parasitäre Tumorerreger kommen fast alle Erreger chronischer Entzündungen in Betracht zum Beispiel Tuberkelbazillen, Syphilisspirochäten, Helminthen, Milben (vgl. XX. und XXI. Mitteilung). Als exogene, nicht parasitäre Ursachen der Tumoren können alle Gifte wirken, die chronische Entzündungen erregen. Dazu kommen photochemische, thermochemische und traumatische Schädlichkeiten. Die endogenen Ursachen der Tumoren werden von Stoffwechselprodukten des Tumorträgers geliefert (vgl. XXII. Mitteilung).

Die Qualität der Tumoren, insbesondere ihre Gutartigkeit oder Bösartigkeit, ist abhängig von der Disposition der Tumormutterzelle (vgl. XXI. und XX. Mitteilung). Daher beobachten wir gelegentlich, daß ein und dieselbe Noxe nebeneinander gutartige und bösartige Tumoren hervorruft. — Die blastomatöse Reizung ist als parthenogenetische Entwicklungserregung fixer Gewebselemente zu definieren, weil sie in Abwesenheit des Reizes, der sie ausgelöst hat, fortwirkt. Daher findet der Satz: „Cessante causa, cessat effectus“ für die Tumorkrankheiten keine Anwendung, wie insbesondere folgende Beispiele lehren:

1) Gemäß den Darlegungen Marchands<sup>1)</sup> dürfen wir folgern, daß Stoffwechselprodukte des befruchteten Ovulums das Chorionepithelioma graviditatis verursachen. Dieser Tumor gelangt jedoch nicht selten zur Entwicklung, nachdem bereits viele Jahre seit der letzten Gravidität verflossen sind. Krösing<sup>2)</sup> berichtet über 21 Fälle von Chorionepithelioma graviditatis mit einer Latenzzeit von 1—9 Jahren. Polano<sup>3)</sup> berichtet über 34 Fälle mit einer Latenzzeit von 1—13 Jahren.

2) Harnblasentumoren, — Karzinome, Karzinosarkome und Papillome, — werden unter den Arbeitern der Anilinindustrie besonders

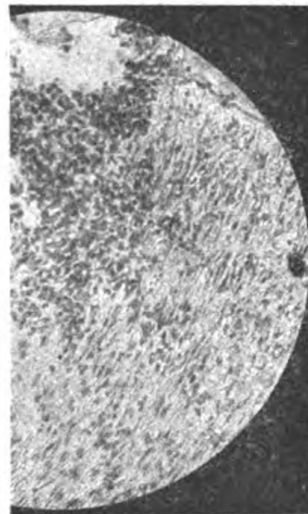


Fig. 14.

1) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. No. 39. u. 40.

2) Arch. f. Gyn. Bd. 88. 1909.

3) München. med. Wochenschr. 1912. Nr. 35. S. 1933.

häufig gefunden. Leuenberger<sup>1)</sup> konstatierte für das Intervall der Jahre 1901—1910, daß bei den Arbeitern der Anilinindustrie in Basel-Stadt Blasentumoren als Todesursache 33mal häufiger beobachtet wurden, als bei dem übrigen Teile der Bevölkerung von Basel-Stadt. Aus Mitteilungen, die wir Oppenheimer<sup>2)</sup> verdanken, ist ersichtlich, daß die Blasentumoren der Anilinarbeiter zur Entwicklung kommen können, nachdem 10—17 Jahre verflossen sind seit der Zeit, wo die Arbeiter in der genannten Industrie tätig waren.

Auch hinsichtlich der parasitären Aetiologie der Tumoren gilt der Satz: *Cessante causa, non cessat effectus*, wie insbesondere die Untersuchungen Fibigers<sup>3)</sup> lehren. Orth<sup>4)</sup> ist daher zu der Auffassung gelangt, daß wahrscheinlich viel mehr Carcinome, als man bis jetzt weiß, durch Parasiten verursacht werden, die zu der Zeit, wo wir die Carcinome wahrnehmen, bereits verschwunden sind.

*Nachdruck verboten.*

## Die entwicklungshemmende Wirkung von Kupfersalzen auf Krankheit erregende Bakterien.

Von Prof. Dr. Gräfin v. Linden (Bonn).

Die ersten genaueren Feststellungen über die Desinfektionswirkung der Kupfersalze auf pflanzliche Parasiten sind uns von Prévost 1807 (*Mém. sur la cause immédiate de la carie ou charbon des blés*. Montabou 1807; cit. *Compt. rend. Acad. de sc.* 1885. p. 1224) überliefert. Prévost fand, daß Brandpilzsporen in einer Lösung von Kupfersulfat der Konzentration von 1:400 000 ihre Keimkraft verlieren. 50 Jahre später prüfte Kühn (Krankheiten der Kulturgewächse. 1858. S. 86; *Bot. Zeitschr.* 1873. S. 502) ebenfalls den Kupfervitriol auf seine Fähigkeit, die Keimkraft der Brandpilzsporen herabzusetzen oder aufzuheben. Eine sehr viel größere Kupferempfindlichkeit stellten Millardet und Gayon 1885 für die Zoosporen der zu den Phykomyceten gehörenden Peronosporaceen, namentlich der *Peronospora viticola*, des Mildewpilzes der Reben, fest (*Compt. rend.* 1885. p. 929). Die Zoosporen konnten sich nach den Versuchen der genannten Forscher in Kupfersulfatlösungen von 1:3 333 333 = 1:13 Millionen auf Kupfer berechnet, noch gerade entwickeln, während stärkere Lösungen deren Absterben zur Folge hatten. Dufour stellte 1889 Versuche mit Sporen von Mykomyceten *Claviceps purpurea*, *Fusicladium pyrinum*, *Pleospora* und *Phrygamidium* an und fand, daß dieselben noch in einer Lösung von Kupfersulfat von 1:1 000 000 keimen, in der Konzentration von 1:10 000 aber fast ausnahmslos die Keimkraft verlieren. Die Sporen der genannten Pilze zeigen sich somit dem Kupfer gegenüber widerstandsfähiger als die Sporen der Peronosporaceen und der Ustilagineen. Linhard fand, daß die Stylosporen von *Laestadia Bidwellii* durch 0,5-proz. Grünspanlösung nach 20 Min., durch 0,5-proz. Kupfersulfatlösung nach 30 Min. getötet werden. Umfangreichere und sehr exakte Abtötungsversuche machte Wüthrich mit verschiedenen Metallsalzen [*Dissert.*] Bern 1892 und *Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten*). Er kam zu dem Ergebnis, daß von allen Sporen die von *Peronospora viticola* bei weitem am empfindlichsten gegen Metallsalze seien, dann folgen *Phytophthora infestans*, *Puccinia graminis* (Aecidiensporen), *Claviceps purpurea* (Konidien), *Ustilago carbo*, *Puccinia graminis* (Uredosporen). Kupfersulfat zeigte sich nach dem Quecksilberchlorid am wirksamsten. Weniger wirksam waren Eisen- und Zinksalze. Für die landwirtschaftliche Praxis bezeichnet Wüthrich das Kupfersalz als am geeignetsten zur Bekämpfung der parasitären Pflanzenkrankheiten. Im einzelnen bestimmte Wüthrich, daß die Sporenkeimung aufhörte

1) Beitr. z. Klin. Chir. Bd. 80. 1912.

2) München. med. Wochenschr. 1920. Nr. 1.

3) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 13. 1913 u. Berlin. klin. Wochenschr. 1913 Nr. 7.

-- In den Versuchen Fibigers waren die metastatischen Carcinome frei von Parasiten.

4) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung. 1920. Nr. 6. S. 165.

von *Peronospora viticola* in einer Lösung von Kupfersulfat von 124:10 000 000, von *Phytophthora infestans* in Lösungen von 124:1 000 000, und bei derselben Konzentration wurde die Bewegung der Zoosporen sofort sistiert. Bei dem wichtigsten Brandpilz des Getreides, *Ustilago carbo*, bei *Puccinia graminis* (Uredosporen) und *Claviceps purpurea* (Konidien) erfolgt keine Keimung der Sporen mehr in Lösungen von 124:100 000. (Die Lösungen waren nach Äquivalenten zusammengestellt  $\frac{1}{2}$   $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O} = 124,5$ .)

Weitere Beweise für die außerordentlich große Kupferempfindlichkeit der *Peronospora* erbrachten Millardets und Gayons Untersuchungen. Sie zeigten, daß Wasser von 0,0000002 Kupfersalzgehalt die Keimung von *Peronospora*-Konidien verhindert, und kamen zu der Ueberzeugung, daß die im Tau und in Regentropfen gelösten minimalen Kupfermengen in der Praxis der *Peronospora*-Bekämpfung das Wirksame seien. Auch der Tau und die Regentropfen von Blättern, die 2 Monate vorher mit Kalk und Kupfervitriol gesprengt worden waren, zeigte dieselbe, die Konidienkeimung verhindernde Kraft. Schließlich wurde festgestellt, daß der Pilz auch nicht in Blätter eindringt, die mit Kupfervitriol besprengt, dann aber mehrere Tage andauernd stark beregnet wurden, obschon seine Sporen an der Blattoberfläche keimen. Das von der Blatcuticula aufgenommene Kupfer genügt also, um den Keimschlauch abzuhalten, diese zu durchdringen. Auch die Unterseite von Blättern, deren Oberseite allein mit der Kupferlösung in Berührung gekommen ist, erweist sich gegen das Eindringen des Pilzes geschützt, obwohl es sich hier nur um die Gegenwart ganz minimaler Kupfermengen handeln kann, die durch den Sätestrom an der Unterseite abgelagert sind (Recherches nouvelles sur l'action des composés cuivreux sur le développement du *Peronospora* de la vigne; Compt. rend. Acad. de Paris. T. 104. 1887. p. 342).

Zu den ersten Arbeiten über den Einfluß von Lösungen der Metallsalze auf die Entwicklung von Spaltpilzen gehören die Untersuchungen von Brefeld (Untersuchungen der Spaltpilze. zunächst der Gattung *Bacillus*; Gesellsch. naturf. Freunde Berlin. Jahrg. 1878. S. 26). Brefeld studierte in erster Linie das Verhalten der Sporen des *Bacillus subtilis* in Lösungen von Sublimat, Kupfersulfat und Karbolsäure. Nach mehrtägigem Aufenthalt der Sporen in ziemlich konzentrierten Lösungen der genannten Substanzen erwiesen sie sich unverändert und keimten in bazillenfrier Nährlösung nach Abtötung des Giftes wie andere Sporen aus. Um ihre Entwicklung zu hemmen, genügten dagegen schon weniger konzentrierte Lösungen, z. B.  $\frac{1}{2}$ -proz. schwefelsaures Chinin, 1-proz. schwefelsaures Eisenoxydul,  $\frac{1}{2}$ -proz. schwefelsaures Kupfer- und Quecksilberchlorid.

Auch die Sporen des *Bacillus sacchari* halten hochkonzentrierten Kupfervitriollösungen stand (35 Proz.), während schon 0,01-proz. Lösungen genügen, um die vegetative Vermehrung des Bazillus zu verlangsamen, die durch stärkeren Kupfergehalt ganz gehemmt wird (Valetton, Bacteriolog. onderzoek. van rietvarieteten. Soerabaia 1891).

Besonders wichtig ist die Feststellung Brefelds, daß der *Bacillus subtilis*, wie die Spaltpilze im Allgemeinen, und zwar im Gegensatz zu den Sproß- und Fadenpilzen, gegen Mineral- und Pflanzensäuren sehr empfindlich ist, gegen Pilzsäuren aber (Milch-Buttersäure), auch gegen Karbol- und Salizylsäure eine sehr viel weniger große Empfindlichkeit zeigt. Es dürften danach auch die Metallsalze der Mineral- und Pflanzensäuren die der Pilzsäuren und der Karbol- und Salizylsäure an Wirksamkeit übertreffen.

Untersuchungen über die Wirksamkeit von Kupfersalzen auf Bakterien in künstlichen und natürlichen Nährböden (septisches Blut) wurden von Semmer-Krajewski angestellt [Ueber die Wirkung der gebräuchlichsten Antiseptica auf einige Kontagien (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak. Bd. 14. 1881. S. 139)]. Auf modifiziertem Pasteurschen Nährboden (100 H, 0,10 Kandi-zucker, 1 weinsaures Ammoniak, 0,5 phosphorsaures Kali) wurde die Bakterienentwicklung gehemmt von Sublimat 1:20 000, Thymol 1:2000, Kreosot 1:1000, Salizylsäure 1:666, Karbolsäure 1:200, Chinin 1:200, Schwefelsäure 1:151, Salpetersäure 1:75, Kupfervitriol 1:133. Die Kupferwirkung ist somit auf dem zuckerhaltigen Pasteurschen Nährboden eine sehr geringe, und steht der Sublimatwirkung jedenfalls bedeutend nach. In septischem Blut zeigte sich die Kupferwirkung etwas stärker; hier wurde das Kontagium schon durch eine Verdünnung von Kupfervitriol von 1:160 zerstört.

Semmer-Krajewski erwähnen ferner eine durch Braidwood und Vacher gemachte Beobachtung, daß unter anderen Mitteln, wie schweflige Säure, Chlor, Eisenaun, Ozon, frische Lösungen von Kalium hypermang., auch Kupferalaun schon in geringen Mengen die Ansteckungsfähigkeit der Kuhpockenlymphe aufhebt. Nach Charpentier äußert sich die faulniswidrige Wirkung des Kupfervitriols bei Wundbehandlung bei 1-proz. Lösungen (Arch. de Toxic. 1884. u. Realenzykl. Bd. 11).

Nach Rochefontaine (Gaz. hebdomadaire de médecine, 1883, No. 28) vermag Kupfervitriol im Verhältnis von 1:1000 = 1:4000 auf Cu berechnet, das Auftreten von Vibrionen in mineralischen und vegetabilischen Mazerationsflüssigkeiten aufzuheben, und Boillat stellte fest, daß Kupferalbuminat das Auftreten von Spaltpilzen in Nährlösungen hindert. Richet hat bei einer ganzen Anzahl von Metallgiften die Wirkung derselben auf Mikroben studiert, um festzustellen, welche Menge pro Liter imstande ist, 48 Std. lang die Bakterienentwicklung zu hemmen. Er verwendete die Chloride der betreffenden Metalle und fand als Minimaldosen:

Hg bei 0,0066 pro Liter			Cu bei 0,062 pro Liter		
Zn	„	0,026	Ni	„	0,18
Cd	„	0,04	Fe	„	0,24

Frégonneau zeigte, daß der Zusatz von Kupfersulfat zu Konserven, Gemüse, insbesondere bei Bohnen und Erbsen, nicht nur die Farbe vorteilhaft beeinflusst, sondern auch wachstumshindernd auf *Proteus* wirkt. Der von den Konservenfabriken geübte minimale Kupferzusatz trägt somit nicht nur zum schöneren Aussehen, sondern auch zur Haltbarkeit der Gemüse bei. Er ist aus diesem Grunde nicht zu verurteilen (Frégonneau, Karl, Weisen die in verschiedenen Substraten gefundenen *Proteus*-Bakterien biologische Unterschiede auf und welche? [Inaug.-Diss. Bern]. Leipzig-Reudnitz 1908; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 801). Auch A. Springer und A. jun. bestätigen die hemmende Wirkung des Kupfersulfates auf Fäulnisbakterien. Und zwar wurde dieselbe sowohl in wässrigem Eiter- und Blutserum, wie auch von Fleisch in Wasser, ferner in Abwässern und in Milch geprüft. In allen Fällen konnten Verff. eine deutliche Hemmung auf die Entwicklung der Fäulnisbakterien feststellen, so daß sie dieser Eigenschaft der Kupfersalze eine große therapeutische Bedeutung zuschreiben (A. Springer u. A. jun., Antiseptic action of copper. (Journ. of ind. and engin. Chem. 1909. p. 676; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. S. 512). Kühl studierte den Einfluß verschiedener Desinfizienten auf gärenden Harn. Spuren von Chlorkalk 0,25 Proz., Kupfersulfat 0,125 Proz., Wasserstoffsuperoxyd 0,5 Proz. zeigten noch bakterizide Eigenschaften. Der Zusatz von Torf erhöhte die bakterizide Wirkung der Metallsalze (Kühl, H., Beiträge zur Kenntnis der chemischen Desinfektionsmittel. (Apothekerztg. Bd. 24. 1909; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. S. 714).

Eine Reihe von Experimenten wurde auch mit metallischem Kupfer ausgeführt. Zu den ersten Arbeiten, die die bakterizide Wirkung des metallischen Kupfers feststellen sollte, gehört die von Clark und Gage. Verff. kommen zu dem Ergebnis, daß Kupfer antiseptischer wirkt als Eisen, Zinn, Zink oder Aluminium. Sie fanden, daß die desinfizierende Kraft des metallischen Kupfers der des Kupfersulfates in wässriger Lösung überlegen sei. Typhus- und Coli-Bakterien sollen wochenlang in Kupfersulfatlösungen von 1:100 000 leben können, während eine Konzentration von 1:1000 sie abtötet [Clark, M. W., u. Gage, S. D., On the bactericidal action of the copper. (Journ. of inf. dis. Suppl. No. 2. p. 175)]. Bankin stellte fest, daß Zink, Aluminium und Kupfer bakterienhaltiges (*Bac. coli*) Wasser innerhalb 1 Std. vollständig sterilisiert, wenn Luft hindurchgeleitet wird. Bei Abwesenheit von Luft — ausgekochtes Wasser — tritt keine bakterizide Wirkung ein. Zink und Aluminium bilden in durchlüftetem Wasser, d. h. bei Sauerstoffzufuhr, Wasserstoffsuperoxyd, dem wahrscheinlich die sterilisierende Wirkung zuzuschreiben ist; beim Kupfer ist dies nicht der Fall und die keimtötende Wirkung muß hier den Kupferionen zugeschrieben werden [Bankin, The germicidal action of metals and its relation to the production of peroxyde hydrogen. (Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 82. 1910)]. Bitter fand, daß einer großen Anzahl von Metallen erhebliche bakterienfeindliche Eigenschaften zukommen gegen darauf eingetrocknete Keime. Die Reihenfolge der untersuchten Metalle hinsichtlich ihrer keimtötenden Kraft ist folgende: Kupfer, Messing, Silber, Gold, Platin, Blei, Gußeisen, Stahl, Aluminium, Nickel, Zink, Zinn. Das Absterben der Bakterien wird, wie diese Versuche weiter ergaben, durch Anfeuchten wesentlich beschleunigt. Für die Schnelligkeit des Absterbens erwies es sich anscheinend gleichgültig, ob die Metallfläche blank geputzt oder oxydiert war. Zum Vergleich herangezogene, mit Leinöl und Fußbodenanstrich versehene Gegenstände zeigten, daß diese Anstriche nur kurze Zeit desinfizierend wirken. Dagegen zeigten verschiedene Glassorten und ebenso Quarz deutlichen bakteriziden Charakter. Alle bei der Möbelschreinerei verwendeten Hölzer wirken nicht keimtötend [Bitter, Ludwig, Ueber das Absterben von Bakterien auf Metallen und Baumaterialien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911. S. 484)].

Diese desinfizierende Wirkung des metallischen Kupfers bestätigen auch die Versuche von Christian (Die Bedeutung der Metalle als Desinfektionsmittel. Desinfektion. 1911. S. 217). Seine Experimente beschäftigen sich mit *B. coli*, *typhi*, *dysenteriae* und *Vibrio cholerae*. Die Metalle wurden in Form von sterilen, runden Plättchen verwandt und in Petri-Schalen eingelegt. Die Bakterienaufschwemmung



wurde auf dieselben getropft. Die größte bakterizide Kraft entfaltete das Kupfer. Coli-Bazillen waren nach  $3\frac{1}{2}$  Std., Typhusbazillen nach  $2\frac{1}{2}$  Std., Dysenteriebazillen und Choleravibrien nach 1 Std. abgetötet. Nach dem Kupfer waren am wirkungsvollsten die Kupferzinklegierungen (Messing), dann folgte Zink und Eisen, dann Blei, das aber den Choleravibrien gegenüber dieselbe bakterizide Kraft entfaltete wie Kupfer. In Urinaufschwemmungen der Bakterien machte sich die keimtötende Eigenschaft nicht geltend. Weiterhin untersuchte Christian, ausgehend von den Angaben Neumanns, der an Handgriffen von Messing niemals Coli-Bazillen nachweisen konnte, eine größere Anzahl von Handgriffen aus verschiedenem Material auf Coli-Bazillen und andere Keime, indem er sie mit sterilen, in sterile Bouillon getauchten Wattebäuschen abwischte und diese nach der Methode von Eijkman prüfte. Während sich an Holz- und Porzellanteilen Keime vorfanden, fehlten bei sämtlichen Messinggriffen und Stangen nicht nur die Coli-Bazillen, sondern auch die so weit verbreiteten Buttersäurebazillen. Auch Gegenstände aus Zink und Eisen erwiesen sich frei von Darmkeimen.

Auf diese, dem Kupfer eigene, besonders auffallende Desinfektionskraft machte neuerdings auch Messerschmidt aufmerksam (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916). Seine Untersuchungen gingen von der Beobachtung aus, daß ein französisches Infanteriegeschütz mit Kupfermantel im infizierten Nährboden die Bakterien abtötet. Weitere Experimente zeigten, daß, ebenso wie technisch reines Kupfer, alle in Wasser unlöslichen Kupfersalze dieselbe Wirkung wie das Metall haben. Die Wirkung erklärt sich Messerschmidt durch die Bildung von Cuprosalzen

$$\begin{array}{c} \text{Cu} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{Cu} \end{array} \text{O, die wenig beständig sind und}$$

unter dem Einfluß der Oxydationsmittel, unter Abscheidung von Kupfermetall, in die giftigen Cuprerverbindungen  $\text{Cu} = \text{O}$  übergehen.

Die Keimarmut der Kupfermünzen beruht nach Messerschmidt auf der Lösung des Kupfers zu Salzen. Hohe Desinfektionskraft im Nährboden haben nach seinen Untersuchungen die Salze von Kupfer, Antimon, Arsen, Zink, Magnesium und Blei. Weniger wirksam sind die Salze von Silber, Cadmium, Wismut, Mangan, Nickel, unwirksam zeigten sich die des Goldes, Quecksilbers, Aluminiums, Zinns, Eisens, Palladiums und des Platins.

Pfeiffer, Kadletz, Baumgarten, Luger und Saxl bestätigten in einer Reihe von Arbeiten die außerordentlich starke antibakterielle Wirkung des Kupfers, die die einen auf chemische, die anderen (Saxl) auf physikalische Vorgänge zurückführen. Diese oligodynamischen Wirkungen werden sowohl von den Metallen selbst, wie von deren Salzen entfaltet. Ferner geht aus den genannten Arbeiten hervor, daß auch Fermentwirkungen von diesen minimalsten Kupfermengen beeinflusst werden, und zwar in hemmendem Sinne. Ebenso wie die Metalle (Silber wirkt schwächer als Kupfer), wirken auf die Fermente (Diastase und Trypsin) Flüssigkeiten ein, welche längere Zeit (14 Tage) mit diesen Metallen in Berührung waren und dann zur Anstellung der Fermentreaktion herangezogen wurden. Schließlich zeigen auch Glasgefäße, in denen sich Kupferlösungen befanden, die dann ausgespült und wieder mit Wasser gefüllt wurden, sowohl bakterizide wie auch die Fermentwirkung aufhebende Eigenschaften. Auch die überraschenden Ergebnisse der neuesten Beobachtungen Saxls über die Fernwirkung oligodynamisch wirkender Substanzen (Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 32. Nr. 40) sind hier zu erwähnen. Saxl stellte fest, daß oligodynamisch wirkende Substanzen, zu denen auch das Kupfer gehört, durch die Luft hindurch nicht nur eine bakterizide Wirkung auszuüben vermögen, sondern auch Körper, wie Glas, Sand, Bolus, Paraffin, Tierkohle so aktivieren, daß auch diese keimtötende Wirkung entfalten und ihre Eigenschaften weiter an Kochsalzlösung übertragen. Wurde z. B. auf den Boden einer Petri-Schale ein Silber- oder Kupferstück, Draht oder Staub gelegt und längere Zeit, 14 Tage bis 6 Wochen, in der Schale gelassen, so hatte der Deckel der Schale bakterizide Eigenschaften angenommen. Kochsalzlösungen, die während 24 Std. in dem aktivierten Deckel gestanden hatten, entfalteten dann ebenfalls eine ausgesprochen desinfizierende Wirkung. Am stärksten zeigte sich diese „Fernwirkung“ bei der Verwendung von Sublimatpastillen und Glassand als zu aktivierende Substanz.

Meine eigenen Untersuchungen über die entwicklungshemmende Wirkung der Kupfersalze auf krankheitserregende Bakterien begann ich im Anschluß an meine Experimentalforschungen zur Chemotherapie der Tuberkulose 1912. Ich suchte festzustellen, wie viel Kupfer notwendig ist, um Tuberkelbazillenkulturen auf künstlichem Nährboden in ihrem Wachstum zu hemmen und abzutöten, so daß sie, auf normale Nährböden übertragen oder in den Tierkörper überimpft, keine Vermehrung zeigen. Ich bediente mich zu diesen Versuchen des gewöhnlich für die

Kultur von Tuberkelbazillen benützten eiweißhaltigen Glyzerinagarnährbodens. Den in den Röhrchen abgefüllten Nährboden wurden vor dem Erstarren die zu prüfenden Substanzen in sterilisierter Lösung oder Emulsion in gleichem Volumen zugesetzt und das Röhrchen kreisförmig geschwenkt, um eine möglichst innige und gleichmäßige Mischung des Inhaltes zu erreichen. Die erstarrten Nährböden wurden nach 24-stünd. Stehen im Brutschrank, wenn ihre Sterilität erwiesen war, mit einem auf Bouillon gezüchteten Tuberkelbazillenstamm vom Typus humanus beimpft. Der Stamm zeigte auf den zu dem Versuch gebrauchten Glyzerinagarnährboden schnelles und üppiges Wachstum. Die Bazillen wurden auf der Nährbodenoberfläche mit der Platinöse in dünner Schicht ausgestrichen, außerdem übertrug ich auch einige größere Kulturstückchen auf die mit Kupfersalz versetzte Agarfläche, um zu sehen, ob die entwicklungshemmende Wirkung sich auch in diesen kompakten Bazillenhäufchen geltend machte. Bei einer vergleichenden Prüfung muß natürlich die auf die Nährböden mit verschiedenem Kupfergehalt übertragene Bakterienmenge möglichst die gleiche sein. Es ist nicht gleichgültig, namentlich, wenn mit größeren Kupferverdünnungen gearbeitet wird, ob 1 oder 2 mg Bazillen auf den zu prüfenden Nährboden übertragen werden, denn der Bazillus bedarf, um geschädigt zu werden, einer bestimmten Kupfermenge, und muß er diese mit einem anderen teilen, so wird sich unter Umständen gar keine oder nur eine ganz geringe Entwicklungshemmung geltend machen. Bakterienhäufchen werden z. B. erst bei der 10mal stärkeren Konzentration gehemmt, die ausreicht, um das Wachstum der flach ausgestrichenen Bazillenschicht aufzuheben. Ich verwendete zu den Versuchen teils organische, teils anorganische Kupfersalze, und zwar Dimethylglykokollkupfer, zimmtsäures Kupferlezithin und Kupferchlorid. Bei gleichmäßiger Verteilung auf der Nährbodenfläche genügte eine Kupferverdünnung von 1:1 000 000, um 1 mg Tuberkelbazillen zum Absterben zu bringen. Wurden 2 mg Bakterien auf dieselbe Fläche übertragen, so entwickelten sich einzelne Kolonien in der oberen Hälfte des Nährbodens, wo seine Schicht dünner ist und entsprechend weniger Kupfer enthält. Bei der Kupferverdünnung von 1:10 000 000 zeigten beide Röhrchen gleichartiges Wachstum, daß aber, verglichen mit den Kontrollen, doch noch deutlich beeinträchtigt erschien. Es genügt somit eine Menge von 0,002 mg Kupfer, gleichmäßig im Nährboden verteilt, um 1 mg Tuberkelbazillen abzutöten. Einen Unterschied in der Wirkung organischer oder unorganischer Kupfersalze habe ich nicht beobachtet.

Die auf die kupferhaltigen Nährböden übertragenen Tuberkelbazillen nehmen die Kupfersalze in sich auf und bilden gefärbte Salze. Dieser Vorgang ist besonders deutlich an den kleineren und größeren Bakterienhäufchen zu beobachten und auf Nährböden, in denen die Konzentration des Kupfersalzes nicht niedriger ist als 1:150 000. Die Bakterienhäufchen beginnen sich zuerst am Rand und schließlich in toto grünlich zu färben; namentlich die kleineren Häufchen erscheinen bisweilen schon nach den ersten Tagen von einer gleichmäßigen Patina überzogen. Diese Grünfärbung habe ich bei keiner anderen Bakterienart bisher beobachtet, und ich schließe daraus, daß sie durch die in dem Wachsmantel der Tuberkelbazillen enthaltenen Fettsäuren bedingt ist. Nach einiger Zeit verschwindet die grüne Farbe und macht einer rotbraunen Färbung Platz. Bei einem Versuch beobachtete ich, daß die Grünfärbung der Bazillenhäufchen sich nach 8 Wochen allmählich wieder

verlor, und daß die bis dahin in ihrem Wachstum stehen gebliebenen Kolonien anfangen, weiterzuwachsen. Die im Nährboden enthaltene Kupfermenge, die Verdünnung war 1:1 000 000, war nicht ausreichend, um die Bazillen in dem Häufchen abzutöten.

Werden die grünlich verfärbten Tuberkelbazillenkolonien auf einem Objektträger zerdrückt, so erscheinen die Bazillen unter dem Mikroskop diffus saftgrün. Die rotbraunen Bakterienhäufchen zeigen, wenn sie zerdrückt werden, unter dem Mikroskop kristalldrusenähnliche Struktur und die Elemente grünliche bis braungrüne Färbung. Unter der Immersion lösen sich die grünlichen, strahligen Massen in grünlich schimmernde, braun gekörnelte Bakterien auf, und es macht den Eindruck, daß das Kupfersalz aus dem Nährboden zuerst in den Mantel in fettsaurer Verbindung aufgenommen und im Bakterienleib zu braun gefärbtem Kupfersalz reduziert wird.

Die grüne Verfärbung der Bakterien wird übrigens nicht nur beobachtet, wenn wir die Tuberkelbazillen auf kupferhaltige Nährböden übertragen; dieselbe Verfärbung tritt ein, wenn wir Tuberkelbazillenkulturen mit stark verdünnten, kupferhaltigen Lösungen überschichten, oder Tuberkelbazillenhäufchen in Kupferlösungen einlegen. Bei Dimethylglykokollkupferlösungen nehmen die Bakterienkolonien zuerst die ultramarinblaue Färbung der Lösung an, sind aber nach 24 Std. grünlich gefärbt, mehr oder weniger intensiv, je nach dem Kupfergehalt der Lösung.

Ich habe versucht, festzustellen, wieviel Kupfer pro mg Tuberkelbazillen aus den Kupferlösungen, wenn diese die Kulturen überdecken, aufgenommen wird. Die Kupferspeicherung zeigte sich nach 3mal 24 Std. verschieden, je nachdem die Kolonien mit Dimethylglykokollkupfer- oder mit Kupferchloridlösungen überschichtet waren. Unter Dimethylglykokollkupferlösung war pro mg Bakterien ca. 0,16, unter Kupferchloridlösung ca. 0,1 mg Kupfer festgehalten worden. Die Kolonien waren völlig mit dem Kupfersalz imprägniert und färbten sich, wenn sie nach dem Auswaschen und Trocknen in Ferrozyankaliumlösung gebracht wurden, braunrot. Die Bakterien selbst waren als stark lichtbrechende Stäbchen zu erkennen, die krustenartige, braunrot gefärbte Verbände bildeten. Wurde nach Ziehl nachgefärbt, so wurden die vorher rotbraunen Bakterienkrusten gelb, während sich die durch Ferrozyankalium nur gelb gewordenen Teile der Kolonie nur diffus rot färbten und in ihrem Gefüge noch vereinzelt säurefeste, feine Stäbchen erkennen ließen. Es zeigten somit auch die Bakterien aus den Partien, die weniger Kupfer zurückgehalten hatten, färberisch kein normales Verhalten mehr. Je höher die Kupferkonzentration in den überschichtenden Kupferlösungen war, und je länger sie eingewirkt hatten, desto vollkommener war auch die Bakterienzerstörung. Auf frischen Nährboden übertragen, zeigten die so veränderten, auch die weniger geschädigten, Bakterien kein Wachstum mehr, und im Tierversuch zeigten sich die völlig durchdrungenen Kolonien steril. Bei kürzerem Aufenthalt in wäßrigen Kupfersalzlösungen (5—24 Std.) erwiesen sich die Bakterien gegenüber dem Tier nicht abgetötet. Die mit solchen Bakterien geimpften Meerschweinchen erkrankten an Tuberkulose, wenn die Krankheit auch etwas später zum Ausbruch kam und weniger stürmisch zu verlaufen pflegte. Die Bakterien verloren indessen auch schon nach 24 Std. ihre Infektiosität, wenn Kupferleizithin in Lebertranemulsion als Versuchsflüssigkeit verwendet wurde.



Im Anschluß an diese Versuche habe ich die Beobachtung gemacht, daß, wenn ich von den die kupferhaltigen Nährböden enthaltenden Reagenzzylinder verwendete, um normale Kulturen anzulegen, die Tuberkelbazillen auf diesen Nährböden nicht zum Wachstum zu bringen waren. Ich konnte keine andere Erklärung für diese Erscheinung finden, als daß, trotz der Reinigung, in der Glaswand der Reagenzzylinder so viel Kupfersalz zurückgeblieben war und vom Nährboden aufgenommen wurde, daß die Bazillen dadurch geschädigt wurden. Die Richtigkeit dieser Auffassung wird neuerdings durch die bereits angeführten Beobachtungen Baumgartens und Lugers bestätigt.

Diese in vitro und auf dem künstlichen Nährboden gewonnenen Ergebnisse über die schädigende Wirkung von Kupfersalzen auf die Lebensfähigkeit des Tuberkelbazillus fanden auch ihre Bestätigung, wenn an Stelle des künstlichen Nährbodens der Tierkörper gesetzt wurde. Tuberkulös infizierte Meerschweinchen, die 10–14 Tage nach der Infektion mit subkutanen Kupfereinspritzungen oder perkutan durch Einreibungen mit Kupfersalzen behandelt wurden, zeigten einen von den Kontrollen verschiedenen Krankheitsverlauf. Aus dem akut verlaufenden, miliaren, innerhalb weniger Wochen zum Tode führenden Krankheitsprozeß wurde eine chronische, zur Lokalisation und zur fibrösen Ausheilung neigende Erkrankung. Bei verschiedenen Tieren, namentlich bei solchen, die mit hohen Anfangsdosen behandelt waren (3–5 mg Cu), kam die Erkrankung völlig zum Stillstand, die Meerschweinchen überlebten die Kontrollen um mehr als das Doppelte und starben nicht an Tuberkulose. Die weniger günstig beeinflussten Tiere zeigten ebenfalls, wenn auch eine weniger auffallende Lebensverlängerung im Vergleich zu den Kontrollen; sie unterschieden sich außerdem durch ihre gute Gewichts- und Temperaturkurve von den nicht behandelten Vergleichstieren, starben aber schließlich doch an den Folgen einer, wenn auch langsam fortgeschrittenen, Tuberkulose, die zur Zirrhose der Leber und zu degenerativen Veränderungen in der Milz zu führen pflegte. Bei mit Kupfersalzeinspritzungen vorbehandelten Kaninchen übte das Kupfer eine ausgesprochene Schutzwirkung aus. Da über diese Versuche ausführlich in meinen Experimentalforschungen zur Chemotherapie der Tuberkulose mit Kupfer- und Methylenblausalzen berichtet ist (Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 27, 34, 40), so versage ich mir hier weitere Ausführungen.

So viel steht heute fest, wie aus meinen und meiner Mitarbeiter systematischen Forschungen hervorgeht, daß dem Kupfer mit Recht Heilwirkung bei den durch den Kochschen Bazillus hervorgerufenen äußeren und inneren Erkrankungen zugeschrieben wird. Unbeeinflusst durch die Arbeiten der beiden Lutons, die wir erst später kennen lernten, gelangten wir bis ins einzelne zu denselben Resultaten wie die beiden französischen Forscher. Wir konnten aber auch noch bestimmte Anhaltspunkte gewinnen, um die von Luton bereits vermutete spezifische Wirkung des Kupfers auf den tuberkulösen Krankheitsprozeß zu beweisen. Das Kupfer verhält sich nämlich im Prinzip gegen den Tuberkelbazillus genau so wie das Salvarsan gegen Spirillen und Spirochäten, wie ich es in meiner 1918 in der Berlin. klin. Wochenschr. erschienenen Arbeit, Gräfin v. Linden, Erfüllt das Kupfer die Forderungen eines spezifisch wirkenden chemotherapeutischen Heilmittels gegen Tuberkulose (Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 298) eingehend ausgeführt und begründet habe. Es hat ausgesprochene bakterizide Wirkung, in-

dem es in geeigneten Verbindungen den Tuberkelbazillus außerhalb und innerhalb des Körpers abtötet und an seiner Vermehrung verhindert. Wie das Salvarsan, so verleihen auch die Kupfersalze dem Körper, wenn sie ihm vor der Infektion zugeführt werden, Schutz gegen die schrankenlose Ausbreitung der Krankheitserreger. Die Kupfersalze erfüllen somit bei der Tuberkulose die Forderungen, die Ehrlich an ein Mittel mit spezifischer Arzneiwirkung stellt, und bestätigen in diesem einen Fall die Erfahrungen der alten Aerzte.

Dieses Ergebnis veranlaßte mich, auch andere Spaltpilze, die als Krankheitserreger in Betracht kommen, auf ihre Kupferempfindlichkeit außerhalb und innerhalb des Körpers zu prüfen, und wir werden aus den folgenden Ausführungen, die den Anfang dieser Untersuchungen bilden, ersehen, daß es keineswegs ausgeschlossen ist, daß den Kupfersalzen bei der Bekämpfung der Infektionskrankheiten in Zukunft wieder eine bedeutendere Rolle zufallen wird, als es heute der Fall ist.

### 1. Versuche mit *Bacterium typhi* (Eberth-Gaffky).

Da meine vorhergehenden Versuche zur Heilung der Tuberkulose am Tier und die Erfahrungen am Menschen gelehrt hatten, daß das zimtsaure Kupferlezithin (Lecutyl), wie auch die Lösung des Dimethylglykokollkupfers gut verträgliche Präparate zur äußeren, innerlichen und intravenösen (Dimethylglykokollkupfer) Verwendung sind, so bediente ich mich auch zu meinen weiteren Versuchen in erster Linie dieser Kupfersalze. Später prüfte ich dann noch die bakterizide Wirkung der Kupferkohle und des Kupfersilikates.

Die Konzentrationen, in denen ich das Kupfer auf die Bakterien einwirken ließ, waren bei den verschiedenen Präparaten einheitlich; sie waren auf metallisches Kupfer berechnet und betrugen: 1:100 bzw. 1:1000—1:10 000 000. In den ersten Versuchen begann ich mit Konzentrationen von 1:100; da die Bakterien aber schon bei 1:1000 in fast allen Fällen abgetötet wurden, so prüfte ich später nur noch von 1:1000 an. Der absolute Kupfergehalt der Kulturen schwankte bei diesen Konzentrationen zwischen 200 und 0,002 mg, ebenfalls auf reines Kupfer berechnet. Die zur Prüfung verwendete Bakterienmenge wurde mittels einer ca. 1 mg fassenden Platinöse übertragen.

Das Verhalten der Bakterien zum Kupfer wurde in der Regel zuerst in der Wasserkultur, in Bouillonkultur und schließlich auf festem, eiweißhaltigem Nährboden geprüft, um auch die Abschwächung kennen zu lernen, die Eiweißkörper auf die bakterizide Wirkung der Kupfersalze ausüben.

Bei Herstellung der Wasser- und Bouillonkulturen vermischte ich in jedem Reagenzylinder 10 ccm Kulturflüssigkeit mit der gleichen Menge der doppelt konzentrierten Kupfersalzlösung oder Emulsion, so daß das Kupfersalz in jeder Kultur in einfacher Konzentration enthalten war. Bei den festen Nährböden wurde die doppelt konzentrierte Kupfersalzlösung bzw. -emulsion dem doppelt konzentrierten Nähragar vor dem Ausgießen in die Petri-Schalen zugesetzt und durch kreisförmiges Schwenken des Röhrchens möglichst gleichmäßig mit dem Nährboden vermischt. Auch die Kupferkohle wurde teils dem Nährboden in dieser Weise zugesetzt, teils auf die Platten gestreut.

Sämtliche Nährböden wurden mit ca. 1 mg einer 36 Std. alten, gut wachsenden Typhuskultur beimpft. Die verschiedenen Versuchsserien

entwickelten sich zum Teil bei Zimmertemp. (18—20°), zum Teil bei Bluttemp. (37°) im Brutschrank. Von den sich bei Zimmertemp. entwickelnden Wasser- und Bouillonkulturen befand sich in der Regel eine Serie im Licht, die andere wurde im Dunkeln gehalten. Die bei Bluttemp. gehaltenen Kulturen befanden sich alle unter Lichtabschluß. Um die fortschreitende Entwicklungshemmung festzustellen, wurde von den flüssigen Kulturen nach verschiedenen Zeiträumen je 1 Tropfen Kulturflüssigkeit auf eine Glyzerinagarplatte übertragen und diese Platten im Brutschrank belassen, bis maximales Wachstum eingetreten, was in der Regel nach 24 Std. der Fall war. In den Wasserkulturen konnte man schon mit bloßem Auge nach 24 Std. erkennen, in welchen Kultur-röhrchen eine Vermehrung der Bazillen stattgefunden hatte, und in welchen die Entwicklung schon am Anfang zum Stillstand gekommen war. Während die Kontrollröhrchen mit lebhafter Bakterienanreicherung deutlich getrübt waren, erschienen die Kupferlösung enthaltenden Gläser, wenn sie geschüttelt wurden, wenig getrübt, sonst ganz klar und hatten einen weniger voluminösen Bodensatz. Wenn die Wasserkulturen nur mit 1 Oese, also mit etwa 1 mg Typhuskultur beimpft worden waren, so zeigten sich die Bakterien schon nach 2 Std. in allen Kupfersalzverdünnungen ihrer Entwicklungsfähigkeit beraubt, und wurde 1 Tropfen der Kultur auf frischen Glyzerinagarnährboden übertragen, so kamen nur Keime von Verunreinigungen, wie sie sich in nicht sterilisiertem Wasser oder in der Luft finden (Kokken, Sarcinen, Vibrionen, Schimmel) zur Entwicklung. Bei den Kontrollkulturen genügte dagegen 1 Tropfen der Flüssigkeit, um die Glyzerinagarplatten mit zahlreichen Typhuskeimen zu bedecken. Wurden die Kulturen längere Zeit bei Zimmertemp. belassen und nach verschiedenen Zeiten auf ihren Gehalt an Typhuskeimen geprüft, so ergab sich bei den schwächsten Kupferverdünnungen, daß, wenn dieselben im Dunkeln gestanden hatten, wieder entwicklungsfähige Typhuskeime darin auftraten und sich vermehrten. So zeigte eine Kultur, die nach 2, 8, 12 Std. sich als steril erwiesen hatte, nach 96 Std. wieder Typhuswachstum. Die Kupfermenge von 0,002 mg hatte hier nicht genügt, um die Typhuskeime abzutöten; ihre Entwicklungsfähigkeit war hier nur zeitweilig aufgehoben worden; nach 96 Std. hatten sich die geschädigten Keime wieder erholt. Standen die Kulturen mit gleich niederem Kupfergehalt im Licht, so blieb alles Leben erloschen. Das Licht verstärkt hier also die Kupferwirkung.

Nach diesen Versuchen würde also eine Kupfermenge von 0,002 mg noch ausreichen, um 1 mg Typhusbazillen in Wasserkultur abzutöten, vorausgesetzt, daß die Kulturen im Licht stehen. Bei Abwesenheit von Licht bedarf es, um denselben Erfolg zu erreichen, einer 10fach größeren Kupfermenge.

Wurde die Bakterienmenge erhöht, d. h. wurde statt 1 mg 3 mg Bakterien in die Flüssigkeit übertragen, so erreichte ich die Abtötung der Typhusbazillen erst bei einer Kupferkonzentration von 1:100 000, bzw. bei einer absoluten Kupfermenge von 0,2 mg. Es war somit nicht die der Gewichtsvermehrung der Bakterien entsprechende 3-fache, sondern die 100-fache Kupfermenge notwendig, um den gewünschten Effekt zu erzielen, und dieser trat nicht schon nach 2, sondern erst nach 18 Std. ein. Die abtötende Wirkung des Kupfers auf Typhusbazillen ist demnach sowohl von der Kupfermenge wie von der Einwirkungsdauer, und, wie es scheint, auch von dem Konzentrationsverhältnis der Bakterien einerseits und des Kupfers andererseits abhängig.

Bei Bouillonkulturen zeigte sich, wie zu erwarten war, die bakterizide Kupferwirkung wesentlich herabgesetzt. Da ein Teil der Kupfersalze mit den Eiweißkörpern schwerer lösliche Verbindungen eingeht, die wohl erst nach der Spaltung dieser Körper durch den Stoffwechsel der Bakterien wieder zur Wirkung gelangen können, so mußten wir eine Verlangsamung der Kupferwirkung auf das Bakterienwachstum und damit eine absolute Schwächung der Kupferwirkung erwarten, denn die Bakterien wurden ja nicht von Anfang ihrer Vermehrung an so vollkommen gehindert wie in der Wasserkultur, wo das darin enthaltene Kupfersalz die Bakterien als einzigen Angriffspunkt hat. Beim Dimethylglykokollkupfer kam deshalb in den Verdünnungen von 1:1000—1:100000000 wohl eine erhebliche Schwächung des Wachstums, eine gegenüber den Kontrollen verringerte Keimzahl auf der Platte zur Beobachtung; eine völlige Sterilisierung der Bouillon wurde durch dieses Kupfersalz aber überhaupt nicht erreicht. Die Lekutylemulsionen zeigten sich dagegen wirksamer; es genügte hier eine Einwirkungsdauer von 24 Std. der Konzentration 1:10000, um die Keimfähigkeit der Typhusbazillen in der Bouillon aufzuheben; die Glycerinagarplatten, die nach dieser Zeit mit der Bouillon beimpft wurden, blieben steril. Die absolute Kupfermenge, die dazu nötig war, um 1 mg Typhusbazillen in Bouillon abzutöten, betrug demnach 2 mg gegen 0.002 mg in Wasserkultur, war also 1000mal größer als bei Abwesenheit von Eiweiß. Die größere bakterizide Wirkung des Lekutyls im Vergleich zum Dimethylglykokollkupfer und auch zum Kupferchlorid beruht auf seiner geringeren Eiweißaffinität, die ihrerseits wieder durch die Lecithinkomponente bedingt ist.

Ähnliche Ergebnisse erhielt ich auf eiweißhaltigen Glycerinagarnährböden. Auch da zeigte sich die Wachstumshemmung der Typhusbazillen durch Lekutylzusatz zum Nährboden wirksamer als der von Kupferchlorid oder Dimethylglykokollkupfer. Während die Lösungen der genannten Kupfersalze das Wachstum der auf der Oberfläche des Nährbodens ausgestrichenen Bakterien wohl abzuschwächen vermochte, kam es bei Lekutylzusatz bis zu einer Verdünnung von 1:10000 und einem absoluten Kupfergehalt von 2 mg zu keiner Bakterienentwicklung. Es sind beim Menschen wiederholt Versuche mit innerlicher Verabreichung von Tierkohle gemacht worden, die bei verschiedenen akuten Darmkrankungen gute Erfolge gehabt haben. Die Kohle, und namentlich die Tierkohle, besitzt in hohem Grad nicht nur die Eigenschaft, Toxine zu binden, sondern auch Bakterien zu adsorbieren. Da sie sich außerdem, wie der Versuch zeigt, innerlich verabreicht, mit dem ganzen Darminhalt eng vermischt und auch an den schleimigen Absonderungen der Darmwände kleben bleibt, so ist sie wohl dazu geeignet, die giftigen Produkte auch bakteriellen Ursprungs und die Bakterien selbst an sich zu reißen und den Körper vor deren Resorption bzw. weiteren vergiftenden Tätigkeit zu schützen. Von diesem Gesichtspunkt ausgehend, schien mir die Kohle besonders geeignet zu sein, als Träger des Kupfers zu dienen und mit ihren bekannten Wirkungen auch noch desinfizierende Kraft zu verbinden. Zuerst versuchte ich, die Kohle dadurch mit Kupfer zu beladen, daß ich sie mit dem spezifisch ziemlich gleich schweren, ebenso feinen Pulver des zimtsauren Kupfers so lange im Mörser zerrieb, bis eine ganz homogene Mischung entstanden war, die sich auch, in Wasser geschüttelt, nicht trennte. Die Kohle war hier das Verdünnungsmittel des Kupfers.

In zweiter Linie benutzte ich Kohle, die in eine Kupferlösung eingetragen worden war und das Kupfersalz aus der Lösung adsorbiert hatte. Die Menge des von der Kohle aufgenommenen Kupfers war, je nachdem ich die Lösung eines organischen oder anorganischen Kupfersulfats verwandte, verschieden. Bei Kupfersulfatlösungen betrug sie annähernd 190, bei Dimethylglykokollkupferlösung 0,6 Proz. Wurde nun die auf die eine oder andere Art zubereitete Kupferkohle Wasserkulturen von Typhusbazillen zugesetzt, so zeigte sich in den Versuchen, in denen ich Lindenholzkohle verwendet hatte, daß völlige Abtötung der Bakterien bis zu einem absoluten Kupfergehalt von 0,02 mg Kupfer erreicht wurde. Die Kohlenmenge war in jedem Kulturröhrchen dieselbe = 20 mg, nur der Gehalt an zimtsauerm Kupfer variierte. Um festzustellen, ob auch die Kohle an sich bakterizide Wirkung ausübe, hatte ich regelmäßig eines der Kulturröhrchen nur mit Kohle (20 mg) beschickt. Es zeigte sich aber, daß die nach 24 Std. aus dem nur Kohle enthaltenden Röhrchen beimpfte Glyzerinagarplatte am folgenden Tag ebenso üppig gewachsen zu sein pflegte, wie die Kontrolle, daß also die Kohle ohne Kupfer das Bakterienwachstum in keiner Weise zu hindern vermochte. Die mit zimtsauerm Kupfer verriebene Tierkohle war sehr viel weniger wirksam als die Lindenkohle; ihre keimtötende Wirkung reichte nur bis zu einem Kupfergehalt von 1,0 mg. Es mag dies damit zu begründen sein, daß das Kupfersalz mit der Tierkohle eine festere Verbindung eingeht als mit der Holzkohle.

Um die Wirkung der Kupferkohle auf festen Nährböden zu prüfen, bestäubte ich zuerst schnell wachsende, auf normalen Glyzerinagarnährböden frisch angelegte Typhuskulturen mit Kupferkohle und verfolgte dann deren Entwicklung im Brutschrank. Es ergab sich als erstes Resultat, daß die Entwicklung der Bakterien auf den mit Kupferkohle bestäubten Kulturen zeitlich sehr stark gehemmt wurde. Während nach 24 Std. die Kontrollen schon kräftig gewachsen waren, konnte man auf den mit Kupferkohle beschickten Platten nur an den Stellen, wo keine Kohle hingekommen war, eine Trübung des Nährbodens erkennen, die auf Bakterienentwicklung schließen ließ. Nach 48 Std. ergaben die mit Kupferkohle bestäubten Platten:

20 mg Kohle mit 0,4 mg Cu	Kein Wachstum, auch nicht in der Peripherie.
20 „ „ „ 0,2 „ „	Wachstum nur an der Peripherie, wo Bestäubung gering.
20 „ „ „ 0,02 „ „	Wachstum nur da gehemmt, wo größere Kohlenmengen liegen.
20 „ „ ohne Kupfer	Ueppiges normales Wachstum.
Kontrolle	Ueppiges normales Wachstum.

Es zeigt sich somit, daß die aufgestreute Kohle das Bakterienwachstum noch intensiver hemmt, als wenn Lecutyl dem Nährboden beigemischt wird. Die auf die Kultur aufgestreute Kohle zeigte sich auch wirksamer als die dem Nährboden als Aufschwemmung zugesetzte. Es ist dies erklärlich, weil im Fall des Aufstreuens die ganze in der Kohle enthaltene Kupfermenge direkt auf die Bazillen einwirken kann, während im anderen Fall die kupferhaltige Kohle nur im kleinsten Teil in unmittelbarer Berührung mit den Bakterien trat. Der andere, in tieferen Schichten des Nährbodens liegende Kupferanteil kann das Wachstum an der Oberfläche nur allmählich und erst, wenn er in Lösung gegangen ist und an der Oberfläche diffundiert, beeinflussen.

Die Erfahrungen, die Pfeiffer, Kadletz, Baumgarten, Luger und Saxl über die bakterizide Wirkung von Glasgefäßen, in denen Kupfersalzlösungen gestanden, gemacht haben, veranlaßte mich, auch die keimtötende Wirkung des Kupfersilikates auf Typhusbazillen festzustellen. Ich konnte die Beobachtungen der genannten Forscher über die bakterizide Wirkung von Glaswänden, die mit Kupferlösungen in Berührung gewesen waren, bestätigen, indem ich in einer Luer-Spritze, die ich 24 Std. lang mit einer 1-proz. Kupferchloridlösung hatte stehen lassen, nach wiederholtem Auswaschen mit Wasser, in wenigen Stunden (2--5) beliebige Bakterienemulsionen abtöten konnte. Es lag mir nun daran, festzustellen, in welcher Form das Kupfer an oder in der Glaswand wirksam ist, und um wie große Lösungsmengen es sich dabei handelt. Es zeigte sich z. B., daß sich verschiedene Glassorten abweichend verhielten. So wurden die Wände eines ebenso wie die Spritze behandelten Reagenzzylinders, der schon öfters sterilisiert worden war, viel weniger wirksam. Nach Saxl geht dem Glas durch langes Sterilisieren die Fähigkeit, durch oligodynamisch wirkende Substanzen aktiviert zu werden, verloren. Herr Dr. Kieser, Beuel, hatte die große Liebesswürdigkeit, die chemische Prüfung des von mir verwendeten Glaspulvers zu übernehmen, und er kam zu dem Resultat, daß das Kupfer zum Teil an der Glaswand adsorbiert, zum größeren Teil aber chemisch gebunden wird. Der chemisch gebundene Teil bildet mit den Bestandteilen des Glases ein zwar schwer lösliches, aber keineswegs unlösliches Kupfersilikat. Die von 1 g Glaspulver aufgenommenen Kupfermengen waren verschieden, je nach der Konzentration und der Art der Kupferlösung. Sie betrug, wenn das Glaspulver mit 50 ccm  $\frac{1}{10}$  normalen Kupfersulfatlösung 2 Std. lang geschüttelt worden war

		0,0152 g Kupfer
bei $\frac{1}{100}$ Lösung $\text{CuSO}_4$		0,00385 " "
" $\frac{1}{1000}$		0,00100 " "
" $\frac{1}{100}$ Dimethylglykokollkupferlösung		0,0007 " "

Ich verbrachte nun von jeder Glaspulversorte 1 g in ein Reagenzglas mit 20 ccm Wasser und beimpfte jedes mit ca. 1 mg Typhusbazillen. Die Bazillen waren abgetötet:

in $\frac{1}{10}$ $\text{CuSO}_4$	nach 5 Stunden
" $\frac{1}{100}$ "	" 5 "
" $\frac{1}{1000}$ "	" 5 "
" $\frac{1}{100}$ Dimethylglykokollkupfer	" 24 "

Es genügte somit 1 g Glaspulver, das mit 1 mg Kupfer beladen ist, um 1 mg Typhusbazillen nach 5 Std. abzutöten. Nach 24 Std. war von dem Kupfer in ionisierter Form nur so viel in Lösung gegangen, daß bei Zufügen von Ferrozyankaliumlösung eine minimale Rotbraunfärbung eintrat und nach 24 Std. ein geringer rotbrauner Bodensatz zu beobachten war. Die Flüssigkeit in dem Reagenzröhrchen, in dem sich das in Dimethylglykokollkupferlösung gelegene Glaspulver befand, ergab keine Kupferreaktion, enthielt also keine freien Kupferionen. Dieser Mangel freier Kupferionen in der Lösung scheint auch die Erklärung für die viel langsamere Wirkung dieses Glaspulvers auf die Typhusbazillen zu sein. Jedenfalls handelt es sich, wenn wir Glas mit Kupfersalzen in der geschilderten Weise imprägnieren und auf Bakterienemulsionen einwirken lassen, um die Wirkung minimaler, aber meßbarer, in Lösung gehender Kupfermengen.

Durch diese starke Desinfektionswirkung der Kupfersalze und auch des reinen Metalles auf Typhusbazillen erscheinen sie in hohem Maße geeignet, als Desinfektionsmittel verdächtigen Wassers zu dienen. Die Kupferempfindlichkeit der Typhusbazillen macht aber auch eine therapeutische Wirkung von Kupferverbindungen auf den an Typhus erkrankten Organismus wahrscheinlich.

Wir sahen, daß in Wasserkulturen die Empfindlichkeit des Typhusbazillus gegen Kupfer die des Tuberkelbazillus auf Eiweißnährböden erreicht; auf eiweißhaltigen Nährböden ist die zur völligen Entwicklungshemmung und Abtötung notwendige Kupfermenge beim Typhusbazillus 10mal größer als beim Tuberkelbazillus. Wenn wir aber in Rechnung ziehen, daß der Tuberkelbazillus sich viel langsamer entwickelt, daß seine Vermehrungsgeschwindigkeit der des Typhusbazillus weit nachsteht, so ergibt sich, daß von beiden Bazillenarten in der Zeiteinheit annähernd gleiche Mengen von einer bestimmten Kupfermenge abgetötet werden.

Für die Therapie ist es von Wichtigkeit, daß die Kupferdosen, die ausreichen, um Typhusbakterien auf eiweißhaltigen Nährböden abzutöten, so klein sind, daß auch die vielfache Menge vom Menschen noch gut ertragen wird. In Form von Kupferlezithin (Lecutyl), das sich im Versuch auf eiweißhaltigen Nährböden als besonders wirksam erwiesen hat, lassen sich dem Menschen lange Zeit hindurch täglich 30 mg Kupfer zuführen, die unter kulturell günstigen Verhältnissen ausreichen würden, um 60 mg Typhusbazillen abzutöten. Da sich auf kürzere Zeit die Dosierung des Lecutyls noch wesentlich steigern läßt und das Kupfer dem Menschen als Dimethylglykokollösung bis zu Mengen von 10 ccm 1-proz. Lösung = 100 mg Cu — bei Tieren auch als Lecutyl — intravenös einverleibt werden kann, so scheint mir das Kupfer ein geeignetes Mittel zu sein, um die Desinfektion des Blutes Typhuskranker zu bewirken.

Die Verwendung von Kupfersalzen bei der Behandlung des Typhus ist übrigens nichts ganz Neues. So schreibt Brucq 1867 den Kupfersalzen sowohl kurative wie auch immunisierende Wirkung bei Typhus zu, und später, 1890, veröffentlichte J. Aulde die Berichte einer größeren Zahl von Kollegen, die die Wirkung des arseniksauren Kupfers unter anderen auch an Typhuskranken studiert hatten und zu günstigen Erfahrungen gekommen sind. Das Kupfersalz wurde hier in kleinsten Dosen verabreicht; die Tagesdosis betrug nur 1— $\frac{1}{2}$  mg, die wäßrige Lösung des Salzes wurde aber sehr häufig (alle 10 Min. bis stündlich) verabreicht. Die Erfahrungen von Aulde werden von Broughton bestätigt. H. Schulz, der diese Arbeiten in den therapeutischen Monatsheften und in der Deutschen med. Wochenschr. 1890 referierte, vertritt allerdings den Standpunkt, daß das arseniksaure Kupfer in diesen kleinen Dosen nicht durch seine antibazilläre Kraft wirke, sondern daß beide Substanzen, sowohl Arsen wie Kupfer, starke Daringifte darstellen, die in den sehr niederen Dosen als energische Stimulantia für diese Gewebe in Betracht kämen und die natürlichen Abwehrkräfte steigerten. Heute kann man auch an oligodynamische Wirkungen denken. Auch bei Bazillenträgern dürfte eine systematisch durchgeführte Behandlung mit diesen oder vielleicht noch anderen wirksameren Kupfersalzen, in Frage kommen, da das in den Körper eingeführte Kupfer größtenteils in der Leber gebunden und abgelagert wird und in hoher Konzentration in der Galle enthalten ist bzw. durch die Galle abgeschieden wird. Da aber die Gallenblase als Ort der Ansiedlung von Typhusbazillen bei Dauerausscheidern eine große Rolle spielt, so könnte möglicherweise

durch den Kupfergehalt des Gallensekretes eine Desinfektion der Wandungen zu erreichen sein. Bei der großen epidemiologischen Bedeutung dieser Fragen und besonders der Heilung der Dauerausscheider dürften sich systematische Versuche am Menschen nach dieser Richtung lohnen. Die bisher gesammelten Erfahrungen lassen die Frage unentschieden, da sie teils dafür, teils dagegen sprechen. So berichtet Wilcke, daß er einen Bazillenträger mit Erfolg mit *Cuprum aceticum* behandelt habe. Die Kur dauerte vom 21. Aug. bis 7. Sept., also 17 Tag. Pat. erhielt täglich 2 mg *Cuprum aceticum* mit dem Ergebnis, daß vom 23. Aug. bis 13. Sept. in 8 Stühlen keine Bazillen mehr gefunden worden sind. In 2 anderen Fällen, in denen Gotschlich auf meine Anregung hin Versuche an alten Bazillenträgern mit Lecutylbehandlung machte, war das Ergebnis ein negatives. Dagegen berichtete mir kürzlich v. Beck in Karlsruhe von einem Fall, in dem der Infektionherd in der Niere lag. Die Krankengeschichte, die mir Herr Prof. v. Beck in lebenswürdigster Weise zur Veröffentlichung zur Verfügung gestellt hat, ist die folgende:

M. A., Krankenpflegerin. 1896 Typhusinfektion bei Typhuspflege, danach Typhuspyelitis, doppelseitig, rechts: Bildung von Pyonephrose. 1904 Nierenexstirpation rechts, Eiter der Niere enthielt massenhaft Typhusbazillen. Erholung, aber chronische Pyelitis. 1918/19 wieder Typhuspflege, daraufhin Schwellung der linken Niere, eitriger Urin stark typhusbazillenhaltig. Ansetzen der Krankenpflege, Lecutylbehandlung, 2 Serien von je 76 Pillen. Nach 4 Wochen Verschwinden der Typhusbazillen und Besserung des Urinbefundes und des Allgemeinbefindens. Zurzeit nur noch chronische Pyelitis, keine Typhusbazillen mehr im Urin. Die Behandlung führte Prof. v. Beck in der Weise durch, daß er die ersten 3—4 Tage 3mal täglich zu den Mahlzeiten 1 Lecutylpille, dann 3mal täglich 2 Pillen gab, bis die Originalpackung von 76 Pillen zu Ende war. Es folgte eine 4-wöchige Pause, worauf mit Darreichung der frischen Pillenserie in gleicher Weise verfahren wurde. Traten vorübergehend Magenerscheinungen auf, was nicht häufig scheint, so wurde die Kupfertherapie einige Tage ausgesetzt.

## II. Versuche mit *Bacterium paratyphi* Typ. B Schottmüller.

Da die Laboratoriumstiere gegen die Infektion mit Typhus zu wenig empfänglich sind, ich aber feststellen wollte, ob Kupfersalze auch innerhalb des lebenden infizierten Organismus auf ihre Bakterien abtötende Wirkung entfalten, ging ich zu Versuchen mit dem für Mäuse außerordentlich pathogenen Bazillus des Paratyphus B über. Den zu den Versuchen verwendeten Paratyphusstamm überließ mir in freundlichster Weise der Leiter des Bakteriologischen Institutes der Landwirtschaftskammer in Bonn, Herr Dr. Krautstrunk.

Beim Anlegen der ersten Kultur, zeigte sich, daß der Paratyphus B ein sehr viel schnelleres Wachstum hatte als sämtliche von mir erprobten Typhusstämme. Die Röhrchen oder Platten zeigten bereits nach 6—8 Std. deutliche Trübung der Oberfläche, während bei Typhus dazu mindestens 12 Std. nötig waren. Die Bedingungen für die Einwirkung der Kupfersalze waren also hier von vornherein ungünstiger als bei Typhus, weil gleiche Kupfermengen in der Zeiteinheit eine größere Zahl von Bakterien abzutöten, bzw. in ihrem Wachstum zu hemmen hatten.

Wie im vorhergehenden Versuch, so wurde auch hier die Kupferwirkung zuerst an Wasserkulturen studiert, die ich aber in diesem Fall sämtlich bei Bruttemperatur beließ. Die Kupferverdünnungen in den einzelnen Röhrchen betrugen 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1000000; der absolute Kupfergehalt war ebenfalls, wie vorher: 20, 2, 0,2, 0,02



0,002 mg. Es zeigte sich nach 24-stünd. Einwirkungsdauer, daß die entwicklungshemmende Wirkung des Kupfers auf die Paratyphusbazillen eine weniger große war als auf Typhus. Der aus der Verdünnung 1:1000000 überimpfte Wassertropfen ergab auf der Platte ein der Kontrolle gleich starkes Wachstum.

In einer zweiten Reihe, die ich bereits nach 3-stünd. Einwirkungsdauer des Lecutyls überimpfte, kam sogar bei der Verdünnung 1:100000 noch eine Anzahl Kolonien zur Entwicklung. Noch erheblich geringer war das Abtötungsvermögen der Kupferkohle. Bei gleicher Einwirkungszeit erzielte ich aus der Verdünnung 1:1000 noch ziemlich zahlreiche Kolonien. Nur in der Schnelligkeit ihres Wachstums unterschieden sich alle durch Kupfersalz abgeschwächten Kulturen von den Kontrollen, denn während der Wassertropfen, aus der Kontrollkultur auf die Glyzerinagarplatte übertragen, schon nach 6 Std. Wachstum zeigte, entwickelten sich die Keime aus den durch Kupfer abgeschwächten Kulturen erst nach 24 Std.

Es war nach dem Ergebnis dieses Versuches zu erwarten, daß der Paratyphusbazillus sich auf eiweißhaltigen Nährböden erst recht widerstandsfähig zeigen würde. Zu meiner Ueberraschung war dies aber nicht der Fall. Die Lecutylplatten zeigten noch in der Verdünnung 1:20000 und einem absoluten Kupfergehalt von 1 mg deutliche Entwicklungshemmung, während bei 1:10000 und 2 mg Kupfer alles Wachstum erloschen war; sogar der dick aufgetragene Impfstrich in der Mitte der Platte entwickelte sich nicht weiter. Aber auch hier war die desinfektorische Kraft des Lecutyls der Kupferkohle weit überlegen, da bei den kupferkohlehaltigen Nährböden die Keime auf der Verdünnung 1:10000 noch üppiges Wachstum zeigten.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Paratyphusbazillus in Wasserkultur dem Kupfer gegenüber widerstandsfähiger ist als der Typhusbazillus, während dieser Unterschied in der Kultur auf eiweißhaltigem Nährboden nicht zum Ausdruck kommt. Wenn wir das Kupfer als Lecutyl anwenden, so bedarf es in der Wasserkultur 0,4 mg, in der Plattenkultur 2 mg Kupfer, um völligen Wachstumsstillstand der in 1 mg Kulturmasse enthaltenen Keime in wenigen (3) Std. zu erreichen. Bei Typhus wurde dasselbe Ergebnis bei 0,02 bzw. 2 mg erreicht.

#### Tierversuche.

Die Wirkung, welche Kupfersalze im Tierkörper auf die Entwicklung der Paratyphusinfektion entfalten, habe ich auf verschiedene Weise festzustellen gesucht. In erster Linie wollte ich die Frage entscheiden, ob eine Vorbehandlung mit Kupfersalzen, in diesem Fall mit Lecutyl, die Empfänglichkeit des Organismus gegen die Infektion vermindert. Da die mit der tödlichen Dosis  $\frac{1}{20}$ – $\frac{1}{50}$  Oese eines virulenten Paratyphusstammes ausgeführte Infektion bei weißen Mäusen in sehr kurzer Zeit zum Exitus führt, so erwartete ich von einer Vorbehandlung größeren Erfolg als von der Kupferbehandlung nach erfolgter Infektion. Ich infizierte daher als 1. Serie 4 längere Zeit mit Kupferemulsion gefütterte Mäuse mit  $\frac{1}{20}$  Oese Paratyphus B. Eine 2. Serie von Mäusen infizierte ich mit der tödlichen Paratyphusdosis, nachdem die Bazillen mit einer Menge Kupferkohle aufgeschwemmt worden waren, die genügend Kupfer enthielt, um die verwendete Bakterienmenge auch auf eiweißhaltigem

Nährboden abzutöten. Eine 3. Serie wurde mit der tödlichen Dosis infiziert und sollte, wenn möglich, mit Kupfersalzen behandelt werden. Die Versuchsanordnung war demnach:

- I. 4 vorbehandelte Mäuse infiziert mit  $\frac{1}{20}$  Oese Paratyphus B.
- II. 4 Mäuse infiziert mit  $\frac{1}{20}$  Oese Paratyphus B, die mit Kupferkohlenaufschwemmung verrieben waren. Auf 1 Oese Bakterien 2 mg Cu.
- III. 8 Mäuse infiziert mit  $\frac{1}{20}$  Oese Paratyphus B als Kontrollen und zur Nachbehandlung bestimmt.

Die Vorbehandlung der 1. Serie war in der Weise erfolgt, daß die Mäuse  $\frac{1}{4}$  Jahr lang täglich 1 Tropfen Lecutylemulsion per os bekommen hatten. Ich hatte zu den Versuchen nicht das zimtsauere, sondern das nukleinsauere Kupferlezithin verwendet. 8 Tage vor der Infektion wurde die Vorbehandlung ausgesetzt. Auf Grund meiner Erfahrungen am Kaninchen konnte ich damit rechnen, daß auch noch nach dieser Pause genügend große Kupfermengen im Organismus der Maus enthalten waren und im Blut kreisten, um gegen die Infektion wirksam zu sein. Während der ganzen Behandlungszeit waren jeder Maus durchschnittlich 67 mg Kupfer zugeführt worden, wovon wohl das meiste in dieser Zwischenzeit wieder ausgeschieden worden war. Nach den Ergebnissen bei Meer-schweinchen zu urteilen, konnte angenommen werden, daß von der zugeführten Kupfermenge noch etwa 6 Proz., d. i. 4 mg, im Körper zurückgeblieben waren. Die Infektion wurde bei sämtlichen Mäusen am Nachmittag gegen 4 Uhr vorgenommen. Gegen 5 Uhr wurden den zur Nachbehandlung bestimmten Mäusen 1 Tropfen Lecutylemulsion bzw. Kupferkohlenaufschwemmung teils subkutan, teils per os einverleibt. Am Morgen des folgenden Tages, 16 Std. nach der Infektion, machten die 8 nicht vorbehandelten Mäuse einen sehr kranken Eindruck. Sie fraßen nicht mehr und saßen zusammengekauert mit gestäubten Haaren in ihrem Glase. Bei einer Maus machten sich Lähmungserscheinungen in den hinteren Extremitäten bemerkbar. Die mit Bakterien und Kupferkohle infizierte Serie verhielt sich auch nicht ganz normal; ihre Haare waren nicht so glatt wie bei gesunden Tieren, aber sie waren in ihren Bewegungen lebhaft und nahmen die Nahrung. Gänzlich unbeeinflusst durch die Infektion zeigten sich die mit Lecutyl vorbehandelten Mäuse. Ihr Fell war glatt, und in Bewegungen und Appetit unterschieden sie sich in nichts von ganz gesunden Tieren. Bis zum Abend waren bereits von den unvorbehandelten Tieren der Ser. III 6 eingegangen. Eine wiederholte Lecutyleinspritzung hatte bei den überlebenden den Zustand scheinbar noch etwas gebessert, am folgenden Tag waren aber auch diese der Infektion erlegen. Die Obduktion ergab bei sämtlichen Mäusen das Bild einer Septikämie. Die mit Paratyphus und Kupferkohle infizierten Mäuse erschienen am 2. und 3. Tage nach der Infektion noch völlig munter. Am 4. Tage fingen aber 2 dieser Tiere an zu kränkeln und eine von ihnen verendete am 5., die andere am 6. Tage nach der Infektion. Die gleichzeitige Anwendung der Kupferkohle hatte mithin die Bakterien so weit abgeschwächt, daß die Inkubationszeit um 3 Tage verlängert wurde. Bei den beiden anderen war die Wirkung eine so energische, daß überhaupt keine Erkrankung erfolgt ist. Von diesen beiden Mäusen wurde eine im Frühjahr 1919 tot gebissen, die andere starb infolge ungeeigneten Futters im Februar 1919.

An den mit Lecutyl vorbehandelten Mäusen ist die tödliche Paratyphusinfektion, was das Allgemeinbefinden betrifft, spurlos vorübergegangen; sie sind auch später nicht erkrankt und ein Weibchen hat

bald nach der Infektion gesunde Junge geworfen. Eine kleine, örtliche Reaktion ist allerdings bei den überlebenden Mäusen aufgetreten. Es bildete sich an der Impfstelle ca. 18 Tage nach der Infektion ein Schorf, der nach etwa 10 Tagen abfiel. Auch bei den beiden Mäusen aus Ser. II wurde diese Schorfbildung beobachtet. Der Versuch hat somit ergeben, daß die innerliche Vorbehandlung mit sehr kleinen Mengen Kupfersalz, in diesem Fall mit Lecutyl, auch wenn sie 8 Tage vor der Infektion abgebrochen wird, weiße Mäuse vor einer tödlichen Paratyphusinfektion schützt. Waren die Paratyphusbazillen vor der Einverleibung mit Kupferkohle in Berührung und wurden sie gleichzeitig mit dieser eingespritzt, so verursachten sie nur bei der Hälfte der Versuchstiere eine tödlich verlaufende Krankheit. Die Behandlung mit kleinen Kupfermengen nach der Infektion vermochte den tödlichen Ausgang, wenigstens wenn er nach so kurzer Zeit erfolgt, nicht zu verhindern. Es ist anzunehmen, daß die Behandlungsergebnisse bei geringerer Infektion besser sein werden, weil bei verzögertem Krankheitsverlauf die Kupferwirkung mehr Zeit hat, in Kraft zu treten.

Ich wiederholte den Mäuseversuch am 4. Dez. 1917. Als Versuchstiere benützte ich:

I. 2 kräftige Kontrollen, II. 2 Mäuse aus Versuch I, die, mit Kupfer vorbehandelt, damals die Infektion überstanden hatten und nicht weiter mit Lecutyl behandelt worden waren. III. 2 Junge dieser überlebenden Mäuse aus Versuch I. IV. 2 Mäuse, die 8 Wochen lang mit Lecutyl gefüttert worden waren. Die Fütterung hatte 8 Tage vor der Infektion ausgesetzt; sie hatten im ganzen 75 mg Kupfer bekommen, wovon aber höchstens  $\frac{1}{20}$  zurückgeblieben war, etwas über 3 mg. V. 2 Mäuse, die seit 7 Tagen erst vorbehandelt waren, bei denen die Fütterung bis zum Tage vor der Infektion fortgeführt worden war. Sie hatten im ganzen 7,5 mg Kupfer bekommen. Nach den Versuchen beim Meerschwein zu urteilen, dürfte von dieser Menge  $\frac{1}{2}$ , d. h. ca. 1 mg, in den Körpersäften und Organen enthalten sein.

Ich hatte zu diesem Versuch auch Mäuse aus dem ersten Experiment verwendet, um zu sehen, ob nach dieser langen Zeit das Kupfer noch eine Schutzwirkung entfaltet, das nach den Analysenergebnissen bei früheren Versuchen am Meerschwein wohl noch in kleinen Mengen im Blut und den Geweben enthalten sein konnte. Es interessierte mich außerdem, zu sehen, ob sich bei diesen vor  $3\frac{1}{2}$  Monaten geimpften Tieren, die die erste Infektion überstanden hatten, und bei deren Nachkommen eine gesteigerte Immunität bzw. eine geringere Empfänglichkeit entwickelt hatte. Bei der geringen Reaktion, die die Impfung der gekupferten Mäuse hervorgerufen hatte, und der Zeit, die zwischen beiden Impfungen verflossen war, erschien eine durch Antikörperbildung hervorgerufene Immunität an sich unwahrscheinlich.

Die Infektion sämtlicher Mäuse erfolgte am 8. Dez. 1917 mit  $1\frac{1}{20}$  Oese =  $1\frac{1}{20}$  mg einer 20 Std. alten Glyzerinagarkultur, des seit August durchschnittlich alle 3 Wochen auf frischen Nährboden übertragenen Paratyphus B-Stammes. Die zur Infektion verwendete Menge hatte im Sommer genügt, um die Kontrollmäuse innerhalb 36 Std. zu töten. Die Kultur war aber diesmal etwas weniger kräftig gewachsen, und der Stamm hatte auch an Virulenz erheblich eingebüßt, denn die geimpften Mäuse zeigten nach 8 Tagen noch keinerlei Krankheitserscheinungen. Nur bei den aus dem Sommersversuch stammenden beiden Mäusen hatte sich an der Impfstelle ein kleiner Schorf gebildet. Ich betrachtete die Infektion als erfolglos und infizierte die Mäuse am 12. Dez. zum 2. Mal. Diesesmal bediente ich mich der doppelten Bakterienmenge und einer 24 Std. alten, in üppigem Wachstum befindlichen Paratyphuskultur.

Außer den zum 2. Mal infizierten Mäusen impfte ich noch 2 frische Kontrollen, da ja die mit den wenig virulenten Bakterien infizierten Mäuse durch die 1. Infektion widerstandsfähiger geworden sein konnten. Bei sämtlichen Mäusen gelang die Infektion regelrecht, nur bei einer zum 2. Mal geimpften Kontrolle hatte ich das Fell durchstoßen, so daß ein unbestimmter Teil der Bakterienemulsion ausgetreten war. Die ersten Krankheitserscheinungen machten sich am folgenden Morgen nach ca. 20 Std. bei den beiden zum 1. Mal infizierten Kontrollen bemerkbar. Dieselben waren nicht mehr so munter wie normal. Am Mittag, also nach ca. 26 Std., beobachtete ich bei diesen beiden Mäusen und außerdem bei einzelnen der nicht mit Kupfer vorbehandelten leichte Lähmungserscheinungen in den hinteren Extremitäten. Die Mäuse zeigten aber noch normale Freßlust. Am folgenden Tage nahmen die Krankheitserscheinungen zu, die Tiere saßen still mit gesenktem, eingezogenem Kopf und zugedrückten Augen in ihrem Glase, verloren die Freßlust und hatten starken Durst. Es starben unter allgemeinen Lähmungserscheinungen:

Neue Kontrollen:	Nr. I. 15. Dez. 10 h Vm. = nach 70 Std.
	„ II. 15. „ 5 h Nm. = „ 75 „
Alte Kontrollen:	„ I. 15. „ 11 h Vm. = „ 71 „
Junge, von Kupfer vorbehandelter Paratyphus-Mutter:	„ I. 15. „ 12 h Vm. = „ 72 „
	„ II. 16. „ 4 h Nm. = „ 100 „
Kupfer- und Paratyphus vorbehandelte Mäuse, Augustversuch:	„ I. 16. „ 4 h Nm. = „ 100 „

Im 1. Anfall waren somit von den 12 infizierten Mäusen 6 eingegangen, überlebend blieben die beiden mit Kupfer 8 Wochen lang und die beiden 8 Tage lang vorbehandelten Mäuse, ferner ein Versuchstier aus dem Sommersversuch, was damals mit Kupfer vorbehandelt worden war, und die eine zum 2. Mal geimpfte Kontrolle, bei der das Fell durchstoßen worden ist.

Bei den eingegangenen Mäusen waren sehr wenig örtliche Veränderungen zu konstatieren. Die Infektionsstelle war weder geschwollen noch gerötet, die Axillar- und Inguinaldrüsen waren wenig vergrößert, aber die Umgebung der Drüsen sehr stark gerötet. Der Enddarm enthielt geformten Kot; es bestand kein Durchfall, der Dünndarm enthielt etwas gelblichen Schleim, war aber weder von außen noch von innen entzündlich verfärbt und ebenso wenig gebläht. Die Milz war bei sämtlichen Mäusen mehr oder weniger stark vergrößert und schwarzbraun gefärbt, auch die Leber erschien verhältnismäßig voluminös und dunkelbraun. Bei sämtlichen Mäusen enthielt das Herzblut zahlreiche Paratyphusbazillen; das überimpfte Blut ergab schnell wachsende Reinkulturen des Krankheitserregers.

Alle überlebenden Mäuse machten bis zum 18. Dez., also bis zum 6. Tage nach der Infektion, einen völlig gesunden Eindruck. An diesem Tage zeigte sich bei allen, mit Ausnahme der Kontrollmaus, die nicht die volle Bakterienmenge erhalten hatte, an der Infektionsstelle ein ziemlich großes, hartes Infiltrat. Bei einer der nur 8 Tage lang mit Kupfer vorbehandelten Mäuse war dieses Infiltrat schon am 17. Dez. aufgetreten. In den nächsten Tagen vergrößerte sich die allmählich verschorfende, infiltrierte Stelle immer mehr, und nahm schließlich annähernd den 4. Teil der Rückenfläche ein. Diese örtliche Reaktion beeinträchtigte die Bewegungsfähigkeit der Tiere zusehends; sie konnten

sich nur mit Mühe strecken und liefen mit gekrümmtem Rücken umher. Es starben schließlich bei immer weiter sich ausbreitendem Infiltrat:

1 der 7 Tage mit Kupfer vorbehandelten Mäuse am 19. Dez. = 7 Tage n. Infekt.  
die 2. der 7 „ „ 23. „ = 11

Bei diesen beiden „war die Kupferbehandlung bis zum Tage der Infektion“ fortgeführt worden.

1 der 8 Wochen vorbehandelten Mäuse am: 24. Dez. = 12 Tage nach Infektion.

Uebrig blieben eine der 8 Wochen lang vorbehandelten Mäuse, bei denen die Vorbehandlung schon 8 Tage vor der Infektion ausgesetzt worden war, 1 Maus der für den Sommersversuch vorbehandelten, die aber in der Zwischenzeit kein Kupfer bekommen hatte, und die zum 2. Male infizierte Kontrolle, bei der sich ein unbestimmter Teil der Infektionsmasse wieder entleert hatte.

Es fiel mir auf, daß bei diesen, im 2. Anfall eingegangenen Mäusen keine Lähmung der hinteren Extremitäten den herannahenden Tod anzeigte. Das Krankheitsbild war ein vom ersten völlig verschiedenes. Die Mäuse wurden schwächer und schwächer und schliefen ruhig ein, während die Futteraufnahme bis zuletzt eine normale war.

Die Sektion der Mäuse ergab an der Infektionsstelle unter der Haut eine nekrotische, von der Muskulatur abschälbare, 10 pfennigstückgroße, wachsartige Masse. Eiterung war nicht zu beobachten. Von diesem Infektionsherd führten prall mit Blut gefüllte Gefäße zu den Inguinaldrüsen, deren Umgebung ebenfalls sehr stark gerötet war. Die Drüsen erschienen, wie früher, nur wenig vergrößert. Ausstriche der serösen Abscheidungen an der Infektionsstelle ergaben Reinkulturen von Bakterien, die sich kulturell im Aussehen von Paratyphus B nicht unterschieden. Von den inneren Organen zeigte sich die Milz vergrößert; das Herz war sehr stark kontrahiert und blutleer und die Lunge ließ an ihrer Oberfläche kleine, rotbraune Fleckchen erkennen, die von kapillaren Blutungen herrührten. Auch Lungen- und Herzblut enthielten die Bazillen in großer Menge.

Die Vorbehandlung mit Kupfer hatte auch in diesem Versuch einen deutlichen Einfluß auf den Verlauf der Infektion. Ihre Schutzwirkung war allerdings keine so vollkommene, wie im ersten Versuch, in dem aber auch nur mit der einfachen tödlichen Dosis infiziert worden war, sie hat aber immerhin bewirkt, daß die Mäuse nicht an der 1. Bakterienüberschwemmung des Blutes nach der Infektion eingegangen sind. Merkwürdigerweise blieb am Herd der Infektion ein Teil der Bakterien lebensfähig, so daß von hier aus ein Rezidiv entstehen konnte, dem nur 2 Tiere, 1 der länger mit Kupfer vorbehandelten Mäuse und 1 der Mäuse, die den Augustversuch überlebt hatten, widerstehen konnte.

Bei den beiden überlebenden Mäusen bildeten sich die Infiltrate allmählich zurück; es war aber am 8. Jan. 1918, also 4 Wochen nach der Infektion, noch ein Schorf zu sehen, der aber im weiteren Verlauf abgestoßen wurde. Auch im Sommersversuch, in dem alle mit Kupfer vorbehandelten Mäuse die Infektion überlebten, hatte sich aber erst nach ca. 18 Tagen ein Schorf entwickelt, der indessen viel weniger ausgedehnt war als in diesem Versuch und leicht abgeworfen wurde. Damals war auch nur mit der einfach tödlichen halben Bakterienmenge injiziert worden.

Bei der überlebenden, 2mal infizierten Kontrolle, die nur einen Teil der Infektionsdosis bekommen hatte, ist weder Infiltrat noch ausge-

dehnter Schorf zur Entwicklung gekommen. Man konnte nur eine kleine Kruste auf der Einstich- und Austrittsstelle der Impfnadel sehen.

Die beiden Versuche zeigen, trotz ihrer verschiedenen Resultate, was die Zahl der die Infektion überlebenden Mäuse betrifft, einwandfrei, daß eine länger andauernde innerliche Vorbehandlung der Versuchstiere mit kleinen Mengen von Lecutyl Schutz gegen die Paratyphusinfektion verleiht. Der Grad der entstehenden Immunität scheint von der Dauer der Vorbehandlung und der Menge des aufgenommenen Kupfers abzuhängen. So ergaben die 3 Monate lang mit Lecutylemulsion gefütterten Mäuse des 1. Versuches bessere Ergebnisse, als die nur 8 Wochen lang gefütterten Mäuse des 2. Im 2. Versuch selbst übertrafen die 8 Wochen lang gefütterten Mäuse wieder diejenigen an Widerstandskraft, die nur 7 Tage vorbehandelt worden waren. Bestimmend für das Endresultat ist ferner auch die Infektionsdosis. Im 1. Versuch, wo ich die einfach tödliche Dosis verwendet habe, zeigten sich alle vorbehandelten Mäuse so erheblich geschützt, daß alle überlebten und daß sie überhaupt kein deutliches Krankheitssymptom zeigten. Im 2. Versuch, in dem ich nach einer 1. vergeblichen Infektion mit einem schlecht gewachsenen Stamm zum 2. Mal mit einem frisch gezüchteten Paratyphusstamm die doppelte tödliche Dosis gab, überlebte von 4 Mäusen nur eine die Infektion. Aber auch bei den Mäusen, die schließlich der Infektion erlegen sind, gestaltete sich der Verlauf der Krankheit zu einem von dem der Kontrollen ganz abweichenden klinischen Bilde, in dem schon an sich die Kupferwirkung zum Ausdruck kam. Während die Kontrollen nach 70 bis 75 Std. der Erkrankung unter dem Bilde der Septikämie erlagen und früh schon schwere toxische Lähmungserscheinungen einsetzten, überstanden die vorbehandelten Mäuse den 1. Anfall glatt; es bildete sich aber 6 Tage nach der Infektion an der Infektionsstelle ein Krankheitsherd, der ausgedehnte Entzündung und Zerfallsprozesse des Gewebes zur Folge hatte und von dem aus eine Ueberschwemmung des Organismus mit den Krankheitserregern erfolgte, die innerhalb weiterer 5—6 Tage zum Tode führte.

Auch beim Menschen spielt der Paratyphusbazillus als Erreger lokaler Entzündungen und Eiterungen eine wichtige Rolle (Mittelohreiterungen, Pyothorax, Perityphlitis etc.). Nach Schottmüller kommt es, namentlich von den Genitalorganen des Weibes aus, gar nicht so selten zu anfangs lokalisierten Paratyphuserden im Körper, die von einer fieberhaften Allgemeininfektion mit Bakteriämie, oder auch von ausgesprochener Sepsis gefolgt sein können (Kolle-Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 4. Aufl. Bd. 1. 1916. S. 347). Nur bei 2 der vorbehandelten Mäuse, und zwar bei einer 8 Wochen lang gefütterten und bei einer, bei der 5 Monate zwischen der Kupferbehandlung und der Infektion gelegen waren, und die die Paratyphusinfektion im Sommer schon ohne zu erkranken, überstanden hatte, besaß der Körper so viel Widerstandskraft, daß auch eine Abheilung der örtlichen Herde eintrat. Die 2., 8 Wochen lang vorbehandelte Maus und die 2. Maus aus dem Augustversuch zeigten sich nicht viel widerstandsfähiger als die nur 7 Tage lang vorbehandelten Mäuse, die letztere überlebte die Infektion statt 7 bzw. 11 Tage, 12 Tage. Die Nachkommen einer der vom Augustversuch überlebenden Mäuse zeigten sich in keiner Weise geschützt; sie verendeten im 1. Anfall wie die Kontrollen. Bei den Kontrollen war es ohne Belang, ob sie innerhalb von 8 Tagen reinfiziert worden waren oder nicht; die erste Infektion

mit nicht virulenten Bakterien, auf die keine Erkrankung erfolgte, hatte keine Immunität hinterlassen. Allerdings überlebte die eine der zum 2. Mal geimpften Kontrollen die Infektion, aber nur deshalb, weil ich bei der 2. Infektion mit dem virulenten Stamm das Fell durchstochen hatte, so daß ein großer Teil der Bakterienemulsion ausgetreten ist. Da bei dieser Maus auch keine örtliche Entzündung entstanden ist, so scheint nur eine sehr kleine Bakterienmenge unter der Haut zurückgeblieben zu sein.

Für die menschliche Therapie knüpft sich an dieses Versuchsergebnis die sehr wichtige Frage, ob auch beim Menschen durch Vorbehandlung mit Lecutyl eine ähnliche Schutzwirkung gegen die Infektion mit Paratyphus bzw. mit Typhus zu erreichen wäre. Da zur Erzielung völliger Immunität gegen die einfache tödliche Dosis bei Mäusen nur sehr kleine Kupfermengen notwendig sind, und der Schutz auch noch einige Zeit nach Aufhören der Vorbehandlung bestehen bleibt, so könnte diese Methode, wenn sie sich auch beim Menschen bewähren würde, bei Typhus-epidemien ein sehr einfaches Mittel zu deren Bekämpfung sein. Da sich der Typhusbazillus durch Kupfersalze noch leichter beeinflussbar gezeigt hat als der Erreger des Paratyphus, so bieten solche Versuche keine schlechten Aussichten. Es ist anzunehmen, daß schon eine Vorbehandlung von wenigen Wochen genügen würde, um vor Erkrankung zu schützen, und es ist nicht ausgeschlossen, daß der Schutz vor Infektion längere Zeit andauert. Bei mit Kupfer vorbehandelten Kaninchen macht sich z. B. die Schutzwirkung gegen die tuberkulöse Infektion noch  $\frac{3}{4}$  Jahre nach Aufhören der Vorbehandlung geltend, indem der Ausbruch der Krankheit verzögert und die Krankheitsprozesse lokalisiert werden.

### III. Versuche mit *Bacterium dysenteriae* Shiga-Kruse.

Dieselben Versuche wiederholte ich mit einem gut wachsenden Dysenteriestamm Shiga-Kruse, den mir in freundlichster Weise das Hygienische Institut der Universität überlassen hatte. Da die Dysenteriebakterien unbeweglich sind, so legte ich die Wasserkulturen nur mit 10, statt bisher 20 ccm, Wasser an. Die absolute Kupfermenge in den Kulturröhrchen betrug die Hälfte der früheren Versuche, da ich die gleiche Kupferkonzentration anwenden wollte. Es enthielten somit die verschiedenen Kulturröhrchen die Verdünnungen: 1:1000, 1:10 000, 1:50 000, 1:100 000, 1:500 000, 1:1 000 000, bzw. an Kupfer: 10 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,1 mg, 0,05 mg, 0,01 mg. Die ersten Wasserproben entnahm ich nach 3 Std. aus den mit Lecutyl versetzten Kulturröhrchen, um sie auf Glycerinagarnährböden zu überimpfen. Die Platten blieben 24 Std. im Brutschrank und nach dieser Zeit zeigten die Kontrollplatte und die aus der stärksten Verdünnung hergestellte gleich starkes Wachstum. Es hatte somit die Menge von 0,01 mg Cu nicht genügt, um die Bakterien abzutöten. Die übrigen Nährböden waren, mit Ausnahme einiger Verunreinigungen, steril geblieben.

Da ich bei den vorhergehenden Versuchen gesehen hatte, daß die Kupferkohle langsamer zu wirken pflegt, so entnahm ich aus den mit dieser beschickten Kulturröhrchen die Proben erst nach 6 Std. In dem Kontrollröhrchen hatte, wie das Plattenwachstum nach 24 Std. zeigte, eine starke Vermehrung der Bakterien stattgefunden, so daß jetzt ein Wassertropfen genügte, um die ganze Oberfläche des Glycerinnährbodens

mit Kolonien zu bedecken. Das Wasser aus allen mit Kupferkohle versetzten Röhrchen erwies sich dagegen als steril, so daß angenommen werden konnte, daß eine vollkommene oder wenigstens sehr weitgehende Abtötung der Bakterien stattgefunden hatte.

Wie in den früheren Versuchen, so ergab auch hier das den Glycerinagarnährböden zugesetzte Kupfersalz ein schlechteres Resultat als in Wasserkulturen. Bei der 1. Serie, in der ich die Verdünnungen: 1:1000, 1:10 000, 1:100 000, 1:1 000 000 prüfte, zeigten die beiden Serien, sowohl die mit Lecutyl als auch die mit Kupferkohle versetzte, nach 24 Std. bei 1:1000 und 1:10 000 vollkommene Sterilität. Nach 48 Std. kamen aber auf der Kupferkohlenplatte zahlreiche, sehr kleine Kolonien zur Entwicklung; ganz vereinzelt fanden sich nach dieser Zeit auch bei der Lecutylplatte. Diese Plattenserie hatte sich bei sehr hoher Bruttemperatur (39—40°) entwickelt. Daß die Höhe der Bruttemperatur von erheblichem Einfluß auf die bakterizide Wirkung des Kupfers ist, zeigt die 2. Serie, die sich bei 35° entwickelt hatte. Bei dieser Serie geht die abtötende Wirkung bis zu 1:100 000, und hier zeigt kaum der Impfstrich deutliche Keimvermehrung. Das Wachstum der Kontrolle wurde durch die weniger hohe Temperatur nicht gefährdet. Es ist daraus zu schließen, daß die Kupferwirkung um so intensiver zum Ausdruck kommt, je langsamer die Bakterien wachsen. Das zeigen am deutlichsten die Versuche mit Tuberkelbazillen, aus denen wir ersehen, daß die nicht in Häufchen ausgestrichenen Impfmassen auch bei einem Gehalt des eiweißhaltigen Nährbodens von 0,002 Kupfer nicht zur Entwicklung kommen. Bei schnellerer Keimvermehrung müssen, um den gleichen Effekt zu erzielen, und der Wachstumsenergie Einhalt zu tun, größere Kupfersalzmengen zur Verfügung stehen.

#### Tierversuche.

Auch mit *Bacillus dysenteriae* Shiga-Kruse habe ich Tierversuche angestellt. 4 weiße Mäuse, die mit Kupfer vorbehandelt waren, 4 Kontrollen und 12 zur Behandlung bestimmte Mäuse wurden mit  $\frac{1}{100}$  Oese einer 18 Std. alten, gut gewachsenen Dysenteriekultur subkutan infiziert. Der Versuch blieb ergebnislos, da auch die Kontrolltiere nicht erkrankten.

#### IV. Versuche mit *Vibrio Finkler*.

Die Versuche mit Vertretern aus der Gattung *Vibrio* begann ich mit dem wenig pathogenen *Vibrio Finkler*. Auch hier prüfte ich in ersten Linie den Einfluß des Kupfers auf den *Vibrio* in Wasserkulturen. Eine Oese voll Bakterienmasse wurde, wie in den früheren Versuchen, an der Glaswand der Kulturröhrchen zerrieben, bis die Vibrionen in der Flüssigkeit gleichmäßig und fein emulgiert waren. Die Kulturen wurden nicht in den Brutschrank gebracht, sondern bei Zimmertemperatur gehalten (16—18°), da das Wärmeoptimum des *Vibrio* niedriger liegt, als bei seinen pathogenen Verwandten. Die Kupferverdünnungen betragen in den Kulturgläsern in den ersten Experimenten: 1:1000, 1:5000, 1:10 000, 1:50 000, 1:100 000, 1:1 000 000; da aber bei 1:1 000 000 nicht mehr die geringste Entwicklungshemmung eintrat, habe ich in den späteren Versuchen nur bis 1:100 000 geprüft.

Die Ueberimpfung der Wasserkulturen erfolgte diesmal auf Agar-nährböden ohne Glycerinzusatz, da Glycerin bei dem *Vibrio* die Ent-



wicklung stört. Das Ergebnis der Ueberimpfung aus den Wasserkulturen war nach 5 Std. Einwirkungszeit des Kupferzusatzes folgendes: Sowohl in der Lecutylreihe wie in der Kupferkohlenreihe ergaben die Kontrollen nur schwaches Wachstum; die Vibrionen hatten sich in dieser Zeit nur wenig vermehrt. Die Kupferverdünnungen 1:1000—1:50 000 waren, mit Ausnahme von Verunreinigungen, steril geblieben, dagegen war auf der aus dem Kulturglas 1:100 000 beimpften Platte eine Anzahl Vibrionenkolonien zur Entwicklung gekommen. Die Kolonien lagen alle im Mittelstrich, wo der Tropfen zuerst ausgestrichen war. Die Kolonien waren aber jünger als die der Kontrolle, was darauf schließen läßt, daß die Keime durch den Lecutylzusatz in ihrer Wachstumsenergie doch etwas abgeschwächt worden waren. Zum Unterschied von der Lecutylserie war bei sämtlichen aus der Kupferkohlenreihe beimpften Platten der Mittelstrich gewachsen, meist stärker als bei den Kontrollen, mit anderen Worten, das in der Kohle enthaltene Kupfer hatte noch nicht hemmend auf die Vibrionenentwicklung eingewirkt.

Eine 2. Wasserentnahme wurde nach 50 Std. gemacht, wo erwartet werden konnte, daß sich die Vibrionen in den Kontrollkulturgläsern angereichert hatten, während das Lecutyl und die Kupferkohle jetzt ihre volle Wirkung entfalten mußten. In der Lecutylserie fand ich diese Annahme vollkommen bestätigt. Die Kontrolle zeigte eine dicht bewachsene Platte, während die aus den Kupfer enthaltenden Röhrchen übertragenen Flüssigkeitstropfen keine entwicklungsfähigen Vibrionenkeime enthielten. In der mit Kupferkohle versetzten Serie war das Wachstum der Kontrolle ebenso stark wie bei der ersteren; in den Kupferkohle enthaltenden Gläsern zeigten sich die Vibrionenkeime bis zu der Verdünnung 1:50 000 abgetötet. Bei der Verdünnung des Kupfers von 1:100 000 hatte sich aus dem auf die Platte überimpften Tropfen eine erhebliche Anzahl von Keimen entwickelt. Durch die längere Einwirkungszeit erhöhte sich somit auch die Wirksamkeit der Kupferkohle, die jetzt der des Lecutyls nach 5-stünd. Einwirkungszeit annähernd gleichkam.

Auf festen Nährböden prüfte ich außer Lecutyl die Lösungen des Dimethylglykokollkupfers, des Methylenblaus und der Kombination Dimethylglykokollkupfer und Methylenblau. Die mit den genannten Substanzen versetzten Nährböden ergaben nach 48-stünd. Entwicklung bei Zimmertemperatur:

Dimethylglykokollkupfer:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:10 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.
Lecutyl:	Vollkommene Hemmung bis 1:10 000, Wachstum des Mittelstrichs 1:100 000, von da an Wachstum wie Kontrollen.
Methylenblau medicinale:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:100 000, von da an Wachstum wie Kontrollen.
Methylenblau + Dimethylglykokollkupfer:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:100 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.

Eine 2. Wasserentnahme wurde nach 50 Std. gemacht, wo erwartet werden konnte, daß sich die Vibrionen in den Kontrollkulturgläsern angereichert hatten, während das Lecutyl und die Kupferkohle jetzt ihre volle Wirkung entfalten mußten. In der Lecutylserie fand ich diese Annahme vollkommen bestätigt. Die Kontrolle zeigte eine dicht

bewachsene Platte, während die aus den Kupfer enthaltenden Röhrchen übertragenen Flüssigkeitstropfen keine entwicklungsfähigen Vibrionenkeime enthielten. In der mit Kupferkohle versetzten Serie war das Wachstum der Kontrolle ebenso stark wie bei der ersteren, in den Kupferkohle enthaltenden Gläsern zeigten sich die Vibrionenkeime bis zu der Verdünnung 1:50 000 abgetötet. Bei einer Verdünnung des Kupfers von 1:100 000 hatte sich aus dem auf die Platte überimpften Tropfen eine erhebliche Anzahl von Keimen entwickelt. Durch die längere Einwirkungszeit erhöhte sich somit auch die Wirksamkeit der Kupferkohle, die jetzt der des Lecutyls nach 5-stündiger Einwirkungszeit annähernd gleichkam.

Auf festen Nährböden prüfte ich außer Lecutyl die Lösungen des Dimethylglykokollkupfers, des Methylenblaus und der Kombination Dimethylglykokollkupfer und Methylenblau. Die mit den genannten Substanzen versetzten Nährböden ergaben nach 48-stündiger Entwicklung bei Zimmertemperatur:

Dimethylglykokollkupfer:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:10 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.
Lecutyl:	Vollkommene Hemmung bis 1:10 000, Wachstum des Mittelstrichs 1:100 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.
Methylenblau medicinale:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:100 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.
Methylenblau + Dimethylglykokollkupfer:	Vollkommene Hemmung bis 1:1000, Wachstum des Mittelstrichs bis 1:100 000, von da an Wachstum wie bei den Kontrollen.

Es zeigte sich also auch auf den eiweißhaltigen, festen Nährböden der Lecutylzusatz am wirksamsten. Der Zusatz von Methylenblau scheint die Wirksamkeit des Dimethylglykokollkupfers etwas zu erhöhen, da auf den mit Methylenblau gemischten Nährböden das volle Wachstum statt bei 1:10 000 erst bei 1:100 000 beginnt.

## V. Versuche mit *Vibrio cholerae* El Tor.

Um die Kupferempfindlichkeit des *Vibrio cholerae* zu prüfen, bediente ich mich eines lange Jahre im Laboratorium weitergezüchteten Stammes, der aus Leichen in El Tor verstorbener Pilger gewonnen war und sehr kräftiges Wachstum auf alkalischen Glycerinagarnährböden zeigte. Es ergab sich aus den Versuchen, daß diese Choleravibrionen viel kupferempfindlicher sind als der *Vibrio Finkler*, und zwar trotzdem ihre Vermehrung eine sehr viel schnellere ist und der des *Paratyphus B* gleichkommt. Ich prüfte die Kupferempfindlichkeit des *Vibrio El Tor* zuerst in Wasserkulturen, dann in Bouillonkulturen und schließlich auf Glycerinagarnährböden. Die Kupferverdünnungen wurden in gleicher Konzentration und in gleicher Weise hergestellt wie in den früheren Versuchen; beimpft wurden sämtliche Kulturen mit abgewogen 2 mg Kulturmasse.

Die ersten Hemmungsproben wurden bei den Wasserkulturen nach 1 Std. Einwirkungsdauer gemacht. Auf der Kontrollplatte kamen, namentlich im Mittelstrich, wo der Wassertropfen aufgetragen worden war, zahlreiche Vibrionkolonien zur Entwicklung; in sämtlichen Kupfer enthaltenden Verdünnungen der Lecutyl- und Dimethylglykokollkupfer-

reihe schienen die Vibrionen bereits abgetötet. Es entwickelten sich hier nur einzelne, von Verunreinigungen herrührende Kolonien, da ich die Kulturen, um die Vibrionen möglichst wenig zu schädigen, mit nicht abgekochtem Leitungswasser angesetzt hatte. Bei der Reihe Wasser-Kupferkohle ergab die Verdünnung 1:10 Mill., auf Kupfer berechnet, noch einzelne keimfähige Cholerakeime, aber sehr viel weniger als die Kontrolle. Dasselbe Resultat ergaben die Ueberimpfungen nach 6 und nach 24 Std. Versuchsdauer, nur daß jetzt auch die hohe Verdünnung der Kupferkohle keine entwicklungsfähigen Keime mehr enthielt. Die Verunreinigungen, die sich schon nach 1 Std. gezeigt hatten, hatten sich dagegen, unbeeinflusst vom Kupfer, stark vermehrt; sie bestanden in der Mehrzahl aus Kokken; weniger zahlreich waren Stäbchenkolonien. Es ist daraus zu schließen, daß die nicht pathogenen bzw. nicht auf den Tierkörper angewiesenen Bakterien gegen die Giftwirkung des Kupfers sehr viel widerstandsfähiger sind, eine Beobachtung, die ich auch bei Luftkeimen, namentlich bei Schimmelpilzen, gemacht habe.

Nach diesen Ergebnissen zeigt sich der *Vibrio cholerae* El Tor in Wasserkultur gegen Kupfer ebensowenig widerstandsfähig wie der Typhusbazillus, der ebenfalls nach 1 Std. schon in der stärksten Kupferverdünnung von 1:10 Mill. seine Entwicklungsfähigkeit einbüßt.

Es war nach den vorhergehenden Experimenten anzunehmen, daß sich das Ergebnis in der Bouillonkultur, wo eine sehr starke Anreicherung der Vibrionen stattfindet und ein Teil des Kupfers an das Eiweiß gebunden wird, wesentlich ändern würde. Die Bouillonröhrchen zeigten sich, wie die Wasserkulturen, nach dem Beimpfen alle deutlich getrübt, besonders in der oberen Hälfte. Wie die Wasserkulturen, so wurden auch die Bouillonkulturen nach 1 Std. dem Brutschrank entnommen und von jeder 1 Tropfen Bouillon auf Glyzerinagarplatten ausgestrichen. Nach 24 Std. ergaben die Platten:

- I. Bouillon-Lecutyl: Absolute Hemmung bei 1:1000—10 000. Kontrollen und hohe Verdünnungen mäßig stark gewachsen.
- II. Bouillon-Dimethylglykokollkupfer: Absolute Hemmung bei 1:1000—10 000 bei 1:10 000, aber schwächeres Wachstum als bei Kontrollen und den hohen Verdünnungen
- III. Bouillonkupferkohle: Absolute Hemmung in keiner Konzentration. Keimgehalt der Kontrolle und der Kupferkohle enthaltenden Flüssigkeit gleich groß.

Die zweite Bouillonentnahme erfolgte nach 6 Std. Versuchsdauer. Die beimpfte Plattenserie ergab nach 24 Std.: Keimvermehrung in den Kontrollgläsern und den hohen Verdünnungen von 1—10 Mill. Bei Bouillon-Lecutyl erstreckt sich die absolute Hemmung, wie vorher, bis 1:10 000, bei Dimethylglykokollkupfer haben dagegen die Vibrionen auch in 1:100 000 ihre Entwicklungsfähigkeit eingebüßt. Bei Bouillon-Kupferkohle macht sich jetzt eine entwicklungshemmende Wirkung auch bei 1:1000 geltend, denn es finden sich hier nur wenige schwach entwickelte Kolonien. Auch in 1:10 000 hat, im Vergleich zu der nach 1 Std. entnommenen Probe, eine Verminderung und keine Vermehrung der Keime stattgefunden, im Gegensatz zu der Kontrolle und den höheren Verdünnungen, die auf eine erhebliche Bakterianreicherung schließen lassen.

Die letzte Probe entnahm ich nach 24-stünd. Einwirkung der Kupferlösungen. Die Bakterienvermehrung war nach dieser Zeit in den Kontrollröhrchen und in den Gläsern, in denen der Kupfergehalt zu gering war, bereits so stark, daß man mit bloßem Auge schon deutlich erkennen

konnte, bis zu welcher Verdünnung des Kupfers eine Abtötung stattgefunden hatte; die unbeeinflussten Kulturgläser zeigten sich völlig getrübt, die anderen aufgehellte und klar. Da, wo die stärkste Anreicherung stattgefunden hatte, war an der Oberfläche Häutchenbildung zu sehen, so bei der Kontrollen und den Konzentrationen 1:1—10 Mill. Die Aussaat eines Bouillontropfens aus den verschiedenen Gläsern auf Glycerinagarplatten bestätigte das Ergebnis der makroskopischen Beobachtung. Bei Bouillon-Lecutyl blieb die völlige Hemmung und Abtötung der Vibrionen bei den Verdünnungen 1:1000—1:10000. Bei Dimethylglykokollkupfer reichte sie bis 1:100000, bei Kupferkohle ging sie auch nach der längeren Einwirkung nicht über 1:1000. Außerordentlich stark waren die Platten aus den Kontrollen und aus den hohen Verdünnungen gewachsen; die Vibrionenentwicklung zeigte sich hier ganz ungehemmt.

In ganz ähnlicher Weise kommt die verschieden große Abtötungskraft der drei geprüften Kupferpräparate zum Ausdruck, wenn wir sie dem Nährboden zusetzen und diese mit derselben Vibrionenmenge wie vorher Wasser- und Bouillonkulturen beimpfen.

Nach 24-stünd. Entwicklung im Brutschrank ergaben die Lecutylplatten völlige Hemmung bei 1:1000—1:20000 und schwächeres Wachstum bei 1:50—1:100000, als bei den Kontrollen und der letzten Verdünnung 1:1000000. Beim Dimethylglykokollkupfer reicht auch hier die keim-schädigende Wirkung am weitesten; sie ist einer völligen Abtötung gleich bis zu 1:50000 und bei 1:100000 macht sich nur ein ganz schwaches Wachstum geltend, ohne typische Koloniebildung, wie die Betrachtung mit der Lupe zeigt. Die Kupferkohle hemmt auch hier nur bis 1:1000.

Wir sehen bei *Vibrio cholerae* El Tor zum erstenmal, daß das Dimethylglykokollkupfer das Lecutyl an Wirksamkeit übertrifft. Während als Lecutyl mindestens 1 mg nötig ist, um 2 mg Vibrionen abzutöten, jedenfalls ihrer weiteren Entwicklung auf frischen, normalen Nährböden zu berauben, genügt bei Dimethylglykokollkupfer 0,2 mg in Bouillonkultur und 0,4 mg, wenn die Kupferlösung dem Glycerinagarnährboden zugefügt wird, um dasselbe Ziel zu erreichen. Bei der Kupferkohle reicht diese Menge längst nicht aus; es bedarf hier eines Zusatzes von 20 mg, auf Kupfer berechnet, um Sterilität der Platten zu erzeugen. *Vibrio cholerae* El Tor ist von allen bisher untersuchten Bakterienarten die gegen Kupferkohle am wenigsten und gegen Dimethylglykokollkupfer am meisten empfindliche.

Verglichen mit *Vibrio Finkler*, ist die Giftwirkung des Kupfers auf *Vibrio cholerae* El Tor auf festen Glycerinagarnährböden als Dimethylglykokollkupfer 50mal und als Lecutyl 20mal größer.

### Versuche mit *Staphylococcus (Micrococcus) pyogenes* $\alpha$ aureus (Rosenbach) Lehm. et Neum.

Die bisherigen Versuche hatten gezeigt, daß Kokken verschiedenster Art, die als Verunreinigungen in den Wasserkulturen auftraten, oder vielleicht auch aus der Luft auf die kupferhaltigen Nährböden gelangt waren, sich gegen die Wirkung der Kupfersalze außerordentlich widerstandsfähig erwiesen hatten. Es schien mir deshalb von Interesse zu sein, die Kupferempfindlichkeit auch solcher Kokkenarten zu prüfen, die als Krankheitserreger beim Menschen auftreten. Ich wählte den Micro-

*coccus pyogenes*  $\alpha$  aureus, den gewöhnlichen Eitererreger, dessen große Resistenz gegen chemische Einflüsse bekannt ist.

Die Versuchsanordnung wich insofern von der bei den früheren Versuchen ab, als ich keine weitere Prüfung des *Staphylococcus* in Wasserkulturen vornahm, nachdem mir ein orientierender Versuch gezeigt hatte, daß auch die in kupferfreies Wasser eingetragenen Keime nach einiger Zeit durch das Wasser geschädigt wurden. Die weiteren Experimente wurden daher nur auf eiweißhaltigen Nährböden ausgeführt.

Wie zu erwarten, zeigte sich der, wie bekannt, gegen alle chemischen Agentien sehr resistente *Staphylococcus* auch gegen die Giftwirkung des Kupfers widerstandsfähiger als alle bisher geprüften Bakterien. Es bedurfte zur Abtötung der überimpften Aureus-Keime auf Glycerin-agarnährböden einer Konzentration des Kupfers im Nährboden von 1:1000. Es waren somit 20 mg Kupfer notwendig, um die Keimfähigkeit von ca. 2 mg des Impfmateri als aufzuheben. Ein weiterer Unterschied von den Ergebnissen der früheren Versuche war, daß bei *Staphylococcus aureus* das Lecutyl nicht nur nicht intensiver, sondern eher weniger giftig wirkte als Dimethylglykokollkupfer oder Kupferchlorid. Es machte mir den Eindruck, daß die Lecithinkomponente, statt zur weiteren Hemmung des Wachstums beizutragen, dieses eher noch förderte und zu besonders intensiv gefärbten Kulturen führte; wenigstens in den Nährböden mit geringem Kupfergehalt. In den Konzentrationen von 1:10000—1:100000, auf Kupfer berechnet, war durch Lecutyl wohl auch noch wenigstens außerhalb des ersten Impfstriches eine gewisse Hemmung der Kokkenentwicklung festzustellen; diese war aber bei Dimethylglykokollkupfer und auch bei Kupferchlorid sehr viel ausgesprochener.

Um festzustellen, ob die jenseits und diesseits des gut gewachsenen Mittelstrichs aufgetragenen Kokken wirklich abgetötet seien, verbrachte ich die in den nicht gewachsenen Impflinien liegenden Bakterienmassen auf normalen Nährboden, denn wenn sie nicht abgetötet waren, so mußten sie hier zur Entwicklung gelangen. Da eine Vermehrung der Keime auch hier ausblieb, so war ich berechtigt, zu schließen, daß die Keime infolge der Kupferwirkung abgestorben waren. Also stirbt der *Staphylococcus aureus* auch bei einer Konzentration des Kupfers im Nährboden von 1:100000 ab, vorausgesetzt, daß den Keimen die absolute Kupfermenge, die ihre tödliche Dosis bildet, zur Verfügung steht. Dieses war auf den Platten bis 1:100000 nur da der Fall, wo beim Beimpfen eine geringere Keimzahl zur Ablage kam.

Da die Versuche anderer gezeigt haben, daß Farbstoffe ein starkes Gift für Eitererreger sind, so prüfte ich auch die Wirkung des Methylenblaus allein und in Verbindung mit Kupfer. Es zeigte sich bei den ersten Versuchen mit dem Farbstoff allein, daß eine Konzentration von 1:1000 notwendig ist, um die Kokken zum Absterben zu bringen. In den schwächeren Konzentrationen des Methylenblaus zeigte sich schwaches oder kräftigeres Wachstum der Bakterien, das aber nicht nur im ersten Impfstrich beobachtet wurde, sondern sich auf der ganzen Oberfläche bemerkbar machte. Es fehlte somit hier der Kontrast des gut gewachsenen ersten und der schlecht gewachsenen bzw. abgestorbenen Bakterien in den späteren, mit weniger Bakterienmaterial ausgeführten Impfstrichen; die Entwicklungshemmung war eine gleichmäßige, aber die, wenn auch schwach gewachsenen, Bakterien zeigten sich auf frischem Nährboden vermehrungsfähig; sie waren an keiner Stelle abgetötet.

Die Beobachtung, daß Methylenblau auch in hohen Verdünnungen eine ziemlich gleichmäßige Wachstumshemmung des *Staphylococcus aureus* bewirkt, veranlaßte mich, zu untersuchen, ob eine Kombination beider Stoffe, des Methylenblaus und des Kupfers, einen stärkeren Einfluß auf das Wachstum des Coccus ausüben würde. Es schien mir wahrscheinlich, daß der in seiner Entwicklung durch den Farbstoff gleichmäßig gehemmte *Micrococcus* durch das Dazukommen der Kupfersalze leichter angegriffen würde, so daß auch in den höheren Verdünnungen die Zahl der Kupferionen ausreichen konnte, um die schon durch Methylenblau geschwächten Keime abzutöten. Diese Erwartung wurde durch das Experiment vollkommen bestätigt; ich erzielte durch Kombination beider Substanzen Sterilität der Platten bis zu der Kupfer- und Methylenblauverdünnung von 1:50 000. Bei 1:100 000 trat nur im ersten Impfstrich, wo besonders viel Kulturmasse auf den Nährboden gelangt war, Wachstum ein. Die Wirkung der Kupfer-Methylenblaumischung, die, wie sonst die Kupferlösungen, dem Nährboden unmittelbar vor dem Ausgießen zugesetzt wurde, war somit 50mal größer als die des Kupfers allein.

Ganz ähnlich wie die dem Nährboden zugesetzten Kupfer- und Methylenblausalzlösungen wirken auf die Kulturen des *Staphylococcus aureus* Bestäubungen der Plattenoberfläche mit Kohle, die Kupfer oder Kupfer und Methylenblau adsorbiert hat. Die entwicklungshemmende Wirkung tritt bei der Bestäubung schon bei 20 mg Kohle und einem Kupfergehalt von 1 mg deutlich in die Erscheinung. Auch bei diesen Versuchen zeigte sich die Holzkohle wirksamer als die Tierkohle, vielleicht deshalb, weil die Adsorptionskraft der Holzkohle eine geringere ist als die der Tierkohle und sie die Substanzen wohl weniger festhält als jene.

### Zusammenfassung.

Es hat sich aus den bisherigen Experimenten ergeben, daß die Kupferempfindlichkeit bei den einzelnen Bakterienarten große Verschiedenheiten zeigt. Ferner haben wir gesehen, was anzunehmen war, daß die Giftwirkung einer bestimmten Kupfermenge, wenn sie Wasserkulturen zugesetzt wird, eine erheblich größere ist als in eiweißhaltiger Flüssigkeit (Bouillon) oder in eiweißhaltigen, festen Nährböden. Die einzige Ausnahme hiervon, die ich bis jetzt beobachtet habe, macht der Tuberkelbazillus, dessen Wachstum auf Eiweißnährboden noch bei einer Kupferkonzentration von 1:1 000 000 und einem absoluten Kupfergehalt von 0,02 mg gehemmt wird, während er in wäßriger Lösung sehr viel größeren Kupfermengen widerstehen kann. Der Tuberkelbazillus ist auch der einzige von allen bisher geprüften Bakterien, der sich durch die Kupferaufnahme sichtbar verfärbt und schon nach wenigen Stunden, wenn er sich in Kupferlösung befindet, ein grasgrünes Aussehen bekommt. Auch auf kupferhaltigen, festen Nährböden wird er erst grünlich, dann braun. Die Kupferempfindlichkeit des Tuberkelbazillus ist so groß, daß die Wachstumsfähigkeit der Kulturen aufhört, wenn dieselben wiederholt auf Nährboden übertragen werden, der sich in Kulturröhrchen befindet, die vorher Kupferflüssigkeit oder kupferhaltigen Nährboden enthalten haben. Da ich an eine solche Möglichkeit nicht gedacht habe, ist mir vor einigen Jahren trotz der sorgsamsten Pflege ein sehr

gut wachsender Tuberkelbazillenstamm zugrunde gegangen. Seitdem ich zum Weiterzüchten nur Röhrchen verwende, die nie mit Kupfer in Berührung gekommen sind, habe ich solche Wachstumshemmungen nicht wieder beobachtet. Dieses, mir damals sehr auffallend erscheinende Ergebnis findet seine Erklärung in den Versuchen Pfeiffers und Kadletz, Ueber die oligodynamische Wirkung verdünnter Kupfersalzlösungen. (Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 39.) Die genannten Autoren hatten Eproutetten 2—3 Tage hindurch bei 37° mit Kupfersulfatlösung stehen lassen. Die Glaswände hatten so viel Kupfer gespeichert, daß auch nach vorhergehender gründlicher Reinigung der Eproutetten in diese eingefülltes Wasser Aufschwemmungen von Paratyphus B von 1:10000 abtötete und gegen reduzierte Fuchsinlösung Kupferreaktion gab. Es handelt sich also hier, wie ich auch in meinem Versuch mit Glaspulver nachweisen konnte, um durch feine Reaktionsmittel sichtbar zu machende Kupfermengen.

Soweit meine Untersuchungen reichen, scheinen die Kokken, besonders die in Luft und Wasser als Verunreinigungen auftretenden Formen, aber auch der pathogene *Staphylococcus aureus*, am wenigsten durch Kupfer geschädigt zu werden. Bei dem *St. aureus* kann indessen, wie die Versuche zeigen, durch Kombination von Kupfer und Methylenblau die bakterizide Wirkung erheblich gesteigert werden. Mittlere Empfindlichkeit zeigten Paratyphus B und Dysenterie (Shiga-Kruse); durch hohe Empfindlichkeit zeichnen sich namentlich die Choleravibrionen des El Tor-Stammes und die Typhusbazillen aus. Der *Vibrio Finkler* steht in seiner Kupferempfindlichkeit hinter den Choleravibrionen weit zurück. In Wasserkultur werden z. B. ca. 2 mg Kulturmasse des *Vibrio El Tor* schon von 0,002 mg Kupfer abgetötet nach einer Einwirkungsdauer von 1 Std. Um bei *Vibrio Finkler* einen ähnlichen Effekt zu erreichen, bedarf es einer Kupfermenge von 0,2 mg und einer Einwirkungszeit von 50 Std. Typhusbakterien (ca. 1 mg) verlieren ihre Entwicklungsfähigkeit, wenn sie 2 Std. einer Kupfersalzlösung von 1:10000000 im Licht ausgesetzt waren; im Dunkeln sterben sie erst bei einer Konzentration von 1:1000000 ab und bei einem absoluten Kupfergehalt von 0,02 mg. Die Typhusbazillen zeigen sich somit etwas weniger empfindlich gegen Kupferlösungen als die El Tor-Vibrionen.

Bei allen bis jetzt geprüften Bakterienarten leidet die abtötende Kraft der Kupferlösungen sehr erheblich durch die Gegenwart von Eiweißkörpern im Nährboden. Eine Ausnahme von dieser Regel macht, wie bereits erwähnt, nur der Tuberkelbazillus, der im Gegenteil auf eiweißhaltigen Nährböden durch Kupfersalze leichter abgetötet wird als in wässrigen Aufschwemmungen. Die Abschwächung durch das Hinzutreten von Eiweißkörpern in kupferhaltigen Nährbodenflüssigkeiten oder in festen Nährböden ist für die einzelnen Arten verschieden groß. Sie beträgt:

bei <i>Bact. typhi</i> das	10 000-fache
„ <i>Vibrio El Tor</i> das	1000 „
„ <i>Bact. dysent.</i> das	500 „
„ <i>Bact. paratyph.</i> das	100 „
„ <i>Vibrio Finkler</i> das	5 „

Diejenigen Bakterien, die in Wasser die höchste Empfindlichkeit zeigen, werden somit durch die Gegenwart von Eiweißkörpern gegen die Kupfer-

wirkung sehr viel mehr abgestumpft als weniger empfindliche Arten. Die Abnahme der bakteriziden Kraft ist nicht konstant und nicht durch die Menge des Nährbodens bzw. des Eiweißgehaltes bestimmt, denn die Menge und Zusammensetzung des Nährbodens war in allen Versuchen die gleiche und trotzdem die Abschwächung eine so ganz verschieden starke. Bouillon scheint etwas weniger abzuschwächen als feste Nährböden.

Der Konzentrationsgrad der Kupfersalze ist insofern für die desinfizierende Wirkung ohne Bedeutung, als eine kleine Keimzahl in schwächster Konzentration ebensogut abgetötet wird als in höher konzentrierten Lösungen. Es kommt nur darauf an, daß Keimzahl und Kupfergehalt des Nährbodens in dem Mengenverhältnis zueinander stehen, daß jeder Keim die Kupfermenge in sich aufspeichern kann, die für ihn giftig ist.

Es hat sich gezeigt, daß es nicht ganz gleichgültig ist, in welcher Form das Kupfer den Nährböden zugesetzt wird. Im ganzen hat sich das Kupferlecithin, das als Emulsion in die Nährböden eingetragen wird, am wirksamsten gezeigt, aber nicht bei allen Bakterien. So übertrifft z. B. bei *Vibrio El Tor* die Wirkung der Dimethylglykokollkupferlösung die des Kupferlecithins oder Lecutyls; dasselbe beobachten wir bei *Staphylococcus aureus*; bei Typhus und Paratyphus und bei Dysenterie zeigt sich dagegen die Lecutylemulsion von größerer Wirksamkeit. Viel weniger wirksam als die genannten Verbindungen ist die mit Kupfer beladene Holzkohle. Bei Typhus in Wasserkultur wirkt Kupferkohle fast so intensiv wie die anderen Präparate; bei allen anderen Bakterien wirkt sie aber erheblich geringer. Es ist gleichgültig, ob als Imprägnationsmittel Kupferchlorid- oder Dimethylglykokollkupferlösung verwendet worden ist. In allen Fällen dauert es zeitlich länger, bis die Kupferkohle ihre Wirkung entfaltet, da das Kupfersalz von der Kohle offenbar sehr fest gehalten wird. Dies ist bei Kupfertierkohle offenbar noch mehr der Fall als bei Kupferholzkohle, denn die desinfizierende Kraft der Kupfertierkohle steht der der Kupferholzkohle noch nach.

Bei den Tierversuchen schwebte mir der Gedanke vor, die Nährbodenversuche ins Lebendige zu übertragen, und den Organismus, ähnlich wie die Glycerinagarplatte, mit Kupfer zu beladen und für das Wachstum der Bakterien ungeeigneter zu machen. Es war zu erwarten, daß die Ergebnisse nicht so gleichmäßig ausfallen würden wie die Plattenversuche, weil der eine Organismus mehr, der andere weniger Kupfer aufnimmt und zurückhält und von vornherein für den Krankheitserreger einen günstigeren oder weniger günstigen Nährboden abgibt. Trotzdem ist der 1. Versuch mit Paratyphus B als Krankheitserreger und weißen Mäusen als Versuchstiere überraschend gleichmäßig ausgefallen, indem die vorbehandelten Tiere alle überlebten, die nicht vorbehandelten sämtliche der Infektion erlagen. Beim 2. Versuch ist der Einfluß der Vorbehandlung auch noch zu sehen; das Ergebnis ist aber weniger schlagend als das des ersten Experimentes, weil ein Teil der vorbehandelten Tiere nach einer Reihe von Tagen an Rückfällen eingegangen ist. Die Kontrollen waren schon im ersten Anfall gestorben. Die Infektionsdosis war allerdings auch eine höhere gewesen, da der Stamm nach seiner ersten Ueberimpfung an Virulenz verloren hatte. Zwei weitere Versuche scheiterten an dem Dazwischentreten von Kokkeninfektionen. Es scheint mir nach den bisherigen Ergebnissen höchst wahrscheinlich zu sein, daß



bei den Versuchstieren durch Vorbehandlung mit Kupfersalzen eine Schutzwirkung gegen Paratyphuserreger erzielt werden kann; es handelt sich aber noch darum, die Bedingungen kennen zu lernen, unter denen, wie im ersten Tierversuch, eine für die Kontrollen absolut tödlich verlaufende Infektion an den vorbehandelten Tieren so spurlos vorübergeht, wie an der mit der nötigen Kupfermenge beschickten Agarplatte die Impfung mit Bakterien.

*Nachdruck verboten.*

## Desinfektion bei künstlich erniedrigtem Kochpunkte unter Anwendung flüssiger Desinfizientia<sup>1)</sup>.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität zu Amsterdam (Vorstand: Prof. Dr. R. H. Saltet).]

Von Dr. C. S. Stokvis, Arzt in Amsterdam.

Mit 1 Abbildung im Text.

In der Praxis der Desinfektion spielt das Verfahren, wobei gesättigter Wasserdampf bei erniedrigtem Druck unter Anwendung flüssiger Desinfizientien benutzt wird, eine große Rolle.

Diese Methode ist schon ziemlich lange bekannt. Wußte man doch, daß bei der Desinfektion durch Erhitzung der Dampf eine größere desinfizierende Wirkung hat als Wasser von derselben Temperatur, event. von 100° C oder darunter.

Diese Erfahrung ist von Eijkman (1) bestätigt worden, der eine ziemlich deutliche Erklärung davon gibt. Er findet, daß bei der Desinfektion durch Dampf die die Bakterien beeinflussende Temperatur eine höhere ist als die des Dampfes, und daß infolgedessen letzterer die Keime schneller tötet als kochendes Wasser von derselben Temperatur.

Es wird also verständlich, daß, wenn Dampf von geringerer Temperatur als die des Siedepunktes schon eine tödliche Wirkung auf Bakterien ausübt, diese Methode vor den verschiedenen anderen Desinfektionsverfahren zu bevorzugen ist. Ist doch der schädliche Einfluß auf die zu desinfizierenden Stoffe unter 100° C ein geringerer als bei höherer Temperatur. Es ist daher klar, daß durch Zusatz von flüssigen Desinfektionsmitteln die desinfizierende Wirkung noch erhöht wird.

E. Mayer (2) war der erste, der 1899 gezeigt hat, daß gesättigter Dampf, wenn er in einem teilweise luftleer gemachten Raume entsteht, schon bei 65–75° C durch Mischung mit Karbolsäure oder Formaldehyd sehr stark desinfizierende Wirkung bekommt. Um Desinfektion zu erlangen, handelt es sich dann nur um wenige Minuten. Angewandt war dieses Verfahren schon früher. Schon 1897 hatte die Société chimique des usines du Rhône in Marseille Versuche angestellt, bei welchen in einem großen Desinfektionsapparate ein Vakuum von 60 mm erzeugt wurde, in welches dann Formaldehyddämpfe, die in einem Trillatschen Autoklaven entwickelt worden waren, eingeführt wurden. Die Wirkung, an Roßhaarballen geprüft, die mit Bakterien behaftet waren, war aber eine sehr geringe. Die Methode wurde weiter ausgearbeitet in dem Institut von Prof. v. Es m arch, wo K. Kokubo (3) Versuche angestellt hat, wobei er Dampf von 100° C kombinierte mit flüssigen Desinfektionsmitteln. Dazu benutzte er einen Sterilisator von Koch und setzte dem siedenden Wasser das Desinfiziens in einer bestimmten Konzentration zu. Als Testmaterial benutzte er einen Kartoffelbazillus und *Bac. anthracis*.

So fand er, daß Essig desinfizierende Wirkung hat, Schwefelsäure aber nicht. Kreolin und verwandte Körper sowie Karbolsäure dagegen wohl. Aetherische Oele, wie

1) Nach einem Vortrag, gehalten in der Sitzung des Niederländischen Vereins für Mikrobiologie vom 17. Dez. 1919.

Terpentin, Eukalyptol u. a., hatten sehr starke desinfizierende Wirkung, Chloroform und Azeton wenig, Formaldehyd aber sehr stark. Auch Chinosol und Nitrobenzol zeigen einige desinfizierende Kraft.

Max Herzog (4) gab eine ziemlich ausführliche Uebersicht über die Entwicklung dieser Methode und berichtete, daß strömender Dampf und heiße Luft die zu desinfizierenden Stoffe zu stark beschädige und Beimischung von Desinfizienten zum Wasser ebenfalls nicht erwünscht ist. Früher benützte man chemisch wirkende Gase, wie Chlor, schwefelige Säure und Brom. Alle diese Gase aber wurden durch das Formaldehyd verdrängt, welches speziell für die Oberflächen- und Zimmerdesinfektion geeignet ist. Um Tiefenwirkungen zu erzielen, wurde das Vakuum zu Hilfe herangezogen.

Esmarch hat 1902 weitere Versuche angestellt, die erwiesen, daß durch Beimischung von Formaldehyd zu Dampf von 100° C die zur Desinfektion größerer und zusammengepreßter Objekte nötige Zeit bedeutend abgekürzt werden kann.

Wasserdampf von 70–80° C, gemischt mit kleinen Quantitäten Formaldehyd, tötet an Fäden angetrocknete Sporen schnell. Durch Anwendung von Formaldehyd-Wasserdampf von 70–80° C wird eine große Tiefenwirkung erzeugt, wobei die Luft mit gleicher Intensität entfernt werden muß.

Herzog kommt zu denselben Schlüssen wie Esmarch; er fand, daß schon bei Anwendung von Dampf, der durch Lösungen von 0,1 Proz. erzeugt wird, Sporen von *Bac. mesentericus*, welche im strömenden Dampfe nach 145 Min. noch am Leben waren, schon in 10–15 Min. getötet werden.

J. Schut jr. (5) hat im Hygien. Institut der Universität Utrecht unter Prof. Dr. C. Eijkman Untersuchungen angestellt, bei denen er fand, daß die Saprophyten und sporenbildenden Bakterien schneller durch Kochen absterben als durch Erwärmung auf dieselbe Temperatur. So fand er, daß für *Bac. fluorescens liquefaciens* bei 55–52° C kein Unterschied bestand zwischen dem Kochen und einfachen Erwärmen (beide innerhalb 1 Min.). Unter 52° zeigt sich aber ein Unterschied. Bei 35° verursacht einfaches Erwärmen kein Absterben mehr, wohl aber Kochen. Innerhalb 20 bis 30 Min. braucht man bei 35° zur Abtötung mehr als eine Stunde. Für *Bac. anthracis* wurde gefunden, daß die Sporen desselben bei 80° durch Kochen in einer Stunde absterben, während bei 83° einfaches Erwärmen keine Abtötung verursachte, die bei 90° für beide Verfahren in einer Minute vor sich ging.

Weitere Versuche wurden angestellt über die Abtötung der Sporen des *Bac. anthracis* durch Dampf von erniedrigtem Druck, wobei große Unterschiede zwischen alten und jungen Kulturen gefunden wurden.

Von 100–90° betrug die Abtötungszeit ungefähr 1 Min., wobei kein Unterschied zwischen alten und jungen Kulturen bestand. Unter 90° wurden ältere Kulturen langsamer abgetötet (1–2 Min.), als junge, welche bereits nach  $\frac{1}{4}$ –1 Min. abstarben. Bei 75° betrug die Zeit dafür bei jungen Kulturen 12 Min., für ältere 50 Min.; bei 70° für junge Kulturen 40 Min., für ältere mehr als 1 Std.

Die Tatsache, daß Kochen bei erniedrigtem Drucke die Bakterien schneller tötet als Erwärmen bei gleicher Temperatur, erklärt er dadurch, daß bei Kochen einer Suspension von lebendigen Zellen sich intrazelluläre Dampfblasen bilden, welche die feine Struktur des Protoplasmas vernichten, wodurch die Zelle permeabel wird.

Gesättigter Dampf übertrifft bei jeder Temperatur das Kochen in bezug auf tödende Wirkung.

Waren also Mayer und Esmarch die ersten, die diese Methode beschrieben haben, so gebührt die Ehre, dieses neue Verfahren wissenschaftlich so ausgearbeitet zu haben, daß die ganze physische und chemische Seite der Frage jetzt klar ist, ausschließlich M. Rubner, weshalb man mit Recht jetzt allgemein die Methode als „das Rubnersche Verfahren“ bezeichnet. Er erprobte durch verschiedene Versuche die Bedingungen sowohl von physikalischer als chemischer Seite (6).

So bestimmte er das Verhältnis zwischen der Konzentration der benutzten Lösungen und der Destillate bei verschiedenen Temperaturen und Druck und fand, daß bei Erniedrigung des Druckes und des Siedepunktes die Konzentration des Destillates abnimmt. Unter anderem wird bei Karbolsäure bei Halbierung des Druckes die Konzentration des Destillates um 95 Proz. des vorigen Wertes niedriger, wie aus folgender Tabelle ersichtlich wird:

Druck	Konzentration des Destillates
760	100
380	91
190	82
95	74
47	64

Benützt man statt Karbolsäure Formaldehyd, so wird die Konzentration der Destillate 0,639-fach geringer.

In weiteren Versuchen (7) bestimmt er die physikalischen Bedingungen der Methode. Wie gesagt, findet die Methode jetzt unter dem Namen des Rubnerschen Verfahrens überall Anwendung, unter anderem in dem sogenannten „Hamburger Apparat“. Für die Desinfektion von Büchern wird sie ebenfalls angewendet (8). Bezüglich der genaueren Beschreibung dieser verschiedenen Verfahren muß auf die spezielle Literatur verwiesen werden, wo auch ausführliche Angaben der Literatur zu finden sind.

Während Rubner die wissenschaftliche Grundlage der Methode geschaffen, hat Christian im Rubnerschen Institut die biologischen Bedingungen des Verfahrens nachgeprüft (10) und den Desinfektionswert der verschiedenen Stoffe geprüft. Hierzu wurde ein ziemlich einfacher Apparat konstruiert, wobei die Vorerwärmung und eigentliche Desinfektionszeit genau voneinander getrennt wurden. Als Testobjekte benutzte er Sporen, die er aus Gartenerde gezüchtet hatte.

Die Menge der Lösung in dem Dampfentwickler wurde dermaßen genommen, daß am Ende des Versuches ungefähr  $\frac{1}{8}$  überdestilliert war; die kleinste Menge betrug 200 ccm, die Temperatur, bei welcher die Versuche angestellt wurden, meistens 50° C.

Erprobt wurden Formaldehyd, Karbolsäure, verschiedene Kresole und ätherische Öle, wovon der höchsten Desinfektionswert Formaldehyd hat. Christian stellte die folgende Tabelle auf:

Temp.	Resistenz der Test- objekte (bei 100°)	Kon- zentration	Druck	Zeit, worin Wachstum	Abtötungs- zeit
50°	5 Min.	16	100	kein	10 Min.
50°	5 „	8	100	kein	10 „
50°	5 „	2	100	15 Min.	20 „
50°	5 „	1	100	40 „	45 „

Für Karbolsäure wurden die folgenden Zahlen gefunden:

Temp.	Resistenz	Konzentration	Druck	Abtötungszeit
50	5 Min.	6 Proz.	100 mm	7 Std.
50	5 „	1 „	100 „	7 „
60	5 „	6 „	160 „	3 „
60	5 „	1 „	150 „	3 „
70	5 „	6 „	210 „	1 „
70	5 „	1 „	190 „	9 „
80	5 „	6 „	370 „	20 Min.
80	5 „	1 „	360 „	4 „

In der Desinfektionspraxis müßte man bei Temperaturen von 60—70° nach Christian höhere Konzentrationen anwenden; bei solchen unter 60° ist die Zeit viel zu groß. Karbolsäure ist also für die Praxis der Desinfektion bei diesem Verfahren nicht verwertbar.

Gleich nach Formaldehyd kommt nach Christian das Thymol. Er findet die folgenden Zahlen:

Temp.	Resistenz	Konzentration	Abtötungszeit
80° C	5 Min.	10 Proz.	1 Std.
		2 „	15 Min.
60° C	5 „	2 „	15 „
52—53° C	5 „	10 „	15 „
		5 „	30 „
		2 „	20 „
		0,5 „	15 „
50° C	5 „	5 „	40 „
		2 „	1 Std.

Die höheren Konzentrationen haben also geringere Wirkung als die niedrigen.

Nach Christian kommen nach Formaldehyd und Thymol, die, wie gesagt oben an stehen, die folgenden Stoffe: Karbolsäure, Kresole (Wirkung ungefähr wie Karbolsäure), Karvokrol und Karvon. Letztere gehören zu den Kampfersorten; sie geben fast kein Resultat. Nach 3 Std. war bei 50 oder 60° noch kein Absterben der Versuchsbakterien zu bemerken.

Akrolein gab ebenso schlechte Resultate.

Weiter wurden noch Versuche angestellt mit Aldehyd. Das Aldehyd kocht schon bei 765 mm bei 65°; es ist, wie alle Stoffe mit niedrigem Siedepunkte, zur Verwendung mit Wasser nicht geeignet. Auch wenn man für die Dampfbildung eine Tem-

peratur nimmt, die viel niedriger ist als die des Stoffes. Die desinfizierende Flüssigkeit verflüchtigt sofort viel zu stark, wodurch sich die Konzentration der Lösung zu rasch ändert. Die Folgen davon sind, daß zuerst die Flüssigkeit und dann das Wasser überdestilliert. Naphthalein ist aus denselben Ursachen ebenso unanwendbar.

Unter den verschiedenen Autoren herrscht also keine Einigkeit bezüglich der Resultate.

Es erschien mir daher nicht unerwünscht, die verschiedenen Resultate, vor allem die von Christian, einer Nachprüfung zu unterwerfen. War es, wie es mir anfänglich schien, nur die Methode an und für sich, die die Resultate verursachte, so wäre es ziemlich gleichgültig, welcher Stoff zur Desinfektion gewählt wurde. Dies würde dann den großen Vorteil haben, daß man bei der Wahl der Desinfektionsflüssigkeiten diejenigen nehmen könnte, die am wenigsten die zu desinfizierenden Gegenstände schädigen könnten.

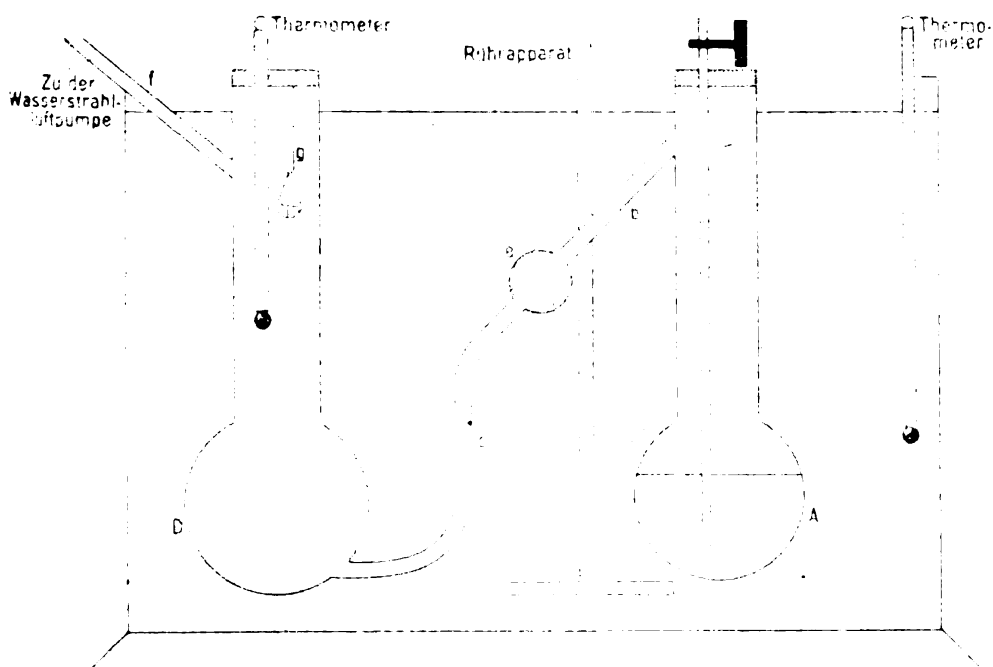


Fig. 1.

Im Anfang habe ich versucht, den Christianschen Apparat zu verwenden, der den großen Vorteil hat, daß man die Objekte, womit die Versuche angestellt wurden, einige Zeit vorerwärmen kann, bevor man den Dampf zuläßt. Leider ist mir die Anwendung dieses Apparates nicht gelungen, und zwar meistens durch die Verhältnisse während des Krieges, wo das Material zur Herstellung schwer oder fast nicht zu bekommen war. Der Druck der Wasserleitung im Amsterdamer Institut war auch infolge der Kohlennot zu niedrig, um in dem ziemlich großen Apparate ein genügendes Vakuum zu erzeugen. Die Anwendung anderer Luftpumpen, z. B. Oelpumpen, die durch einen Elektromotor getrieben werden, hatte den großen Nachteil, daß die durch die verschiedenen Stoffe entwickelten Dämpfe der Konstruktion der meisten Luftpumpen schaden. Um diesen Mißständen abzuwehren, mußte ich zwischen Luftpumpe und Apparat weitläufige Wascheinrichtungen einschalten. Ich habe darum den Apparat von Christian ziemlich vereinfacht und mit diesem neuen Apparate meine Versuche angestellt (siehe die Figur).

*A* ist ein gewöhnlicher Fraktionierkolben, der mittels eines durchlöcherten Gummistopfens geschlossen ist. In diesem Loche befindet sich ein Glasrohr, dessen Unterteil kapillär ausgezogen ist und in die Flüssigkeit hineinragt. Ueber den obersten Teil des Glasrohres außerhalb des Stopfens ist ein Gummischlauch gestülpt und darin ein Glashahn befestigt, mittels dessen man also die Luftzufuhr regeln kann. Durch das Rohr *b* steht der Abdampfungskolben in Verbindung mit dem zweiten Kolben *D*. Früher war diese Verbindung ein einfaches Rohr. Später wurde aus noch anzuführenden Gründen, in diesem Rohre mittels eines Gummischlauches eine Glaskugel *c* eingeschaltet, die mit Glaswolle gefüllt war. Der in *A* entwickelte Dampf kann also nach dem Kolben *D* gehen, der fast einen Liter Flüssigkeit faßt. Das Rohr *e*, welches die Verbindung mit *A* herstellt, ist fast am Boden eingeschmolzen. Im Halse des Kolbens ist ein Glasrohr angebracht; der Kolben ist ebenfalls mit einem Gummistopfen geschlossen. In diesem Stopfen befindet sich ein Loch, wodurch ein Thermometer ins Innere des Kolbens ragt. *G* ist ein aus Glas angefertigter Haken, der in dem Stopfen eingeschmolzen ist und an dem man mittels eines Fadens Filtrierpapierstreifen, welche mit einer Emulsion der Versuchsbakterien durchtränkt sind, befestigen oder eine Art Drahtnetz hängen kann, worin man Granaten mit Bakterienemulsion bringt. Das Rohr *f* führt zu einer Waschflasche und durch diese zu einem Barometer und weiter zu einer Wasserstrahlluftpumpe. Die Kolben *A* und *b* mit den gesamten Röhren, mit Ausnahme eines Teiles von *f*, befinden sich in einem großen, aus Blech angefertigten Wasserbade, in dem das Wasser so hoch steht, daß die Anschlußpunkte der Röhren *f* und *b* unter Wasser stehen. Im Wasserbade befindet sich noch ein Thermometer und ein Rührapparat, welcher durch einen kleinen Elektromotor von  $\frac{1}{100}$  Pferdekraft getrieben wird. Zur genügenden Füllung des Bades brauchte ich ungefähr 33 l; es wurde durch einen großen Kanonenbrenner und einen kleinen Argand-Brenner erwärmt. War die erwünschte Temperatur erreicht, so wurde, da für die große Menge Wassers die gewöhnlichen Thermoregulatoren nicht benutzbar waren, mittels des Rührapparates und des kleinen Argand-Brenners die Temperatur reguliert.

Nachdem das Wasser auf die bestimmte Temperatur erwärmt war, wurde mittels eines Trichters in den Kolben *A* die Desinfektionsflüssigkeit gebracht und zu gleicher Zeit der Stopfen des Kolbens *b* gelüftet und der Papierstreifen an dem Haken *g* oder das die Granaten enthaltende Drahtnetz befestigt. Nun wurde die Pumpe in Betrieb gesetzt und gleichzeitig der Hahn im Rohre *h* ein wenig offen gelassen, damit durch das kapillär gezogene Ende dieses Rohres kleine Luftblasen durch die Flüssigkeit geleitet wurden.

War der gewünschte Quecksilberdruck erreicht, so wurde durch Regulierung des Hahnes der Luftpumpe der Druck ziemlich genau auf derselben Höhe gehalten. Das Durchlassen der Luft durch die Desinfektionsflüssigkeit ist unbedingt notwendig, da man sonst in den Glasgefäßen die Flüssigkeit nicht kochend erhalten kann, worauf auch Christian in seiner Arbeit hinweist. Es wird dadurch etwas Luft zugelassen, was ohne Schaden geschehen kann; behauptet Rubner doch, daß eine Mischung mit weniger als 10 Proz. Luft keinen Einfluß ausübt. Bei dünnen Kapillaren und fast verschlossenem Hahn wird dieser Prozentgehalt nie erreicht.

Nach Beendigung der Versuchszeit wurde die Wasserstrahlluftpumpe

außer Betrieb gesetzt, was am besten durch Anwendung eines Dreiweghahnes geschah, welcher zwischen Waschflasche und Barometer eingeschaltet war. Der Gummistopfen des Kolbens *D* wurde gelüftet und die Versuchskörper mittels einer sterilen Pinzette in sterile Bouillon gebracht.

Anfänglich habe ich meine Versuche mit *Staphylococcus pyogenes aureus* angestellt, der aus einem Abszesse gezüchtet war. Vorher war die Resistenz dieser Bakterie gegen Erhitzung und Sublimat geprüft worden. Ersteres geschah dadurch, daß eine Emulsion einer 24 Std. alten Agar-Agarkultur in zugeschmolzenen Röhrchen in ein Wasserbad gebracht wurde. Die Sublimatresistenz wurde nach Paul und Krönig (11) mittels Granaten mit einer Emulsion der Bakterien, einer äquimolekularen Sublimatlösung in Uhrschildchen mit Fällung des Sublimates durch Schwefelammonium geprüft. Hierbei ergab sich, daß die Staphylokokken durch Erhitzung auf 60° C innerhalb 3 Min. abgetötet wurden, nach 2 Min. jedoch noch am Leben waren.

In einer  $\frac{1}{10}$  äquimolekularen Lösung von Sublimat wurden die Bakterien innerhalb  $\frac{3}{4}$  Min. abgetötet, waren aber nach  $\frac{1}{2}$  Min. noch am Leben. Später ergab sich, daß die benutzten Bakterien ihre Gram-Festigkeit eingebüßt hatten, infolgedessen ein neuer Stamm gewonnen wurde, welcher dieselbe Resistenz gegen Erhitzung und Sublimat hatte.

Eine Emulsion einer 24 Std. alten Agarkultur wurde auf sterile Filtrierpapierstreifen, die mit einem Faden versehen waren, gebracht und daran angetrocknet. Die Papierstreifen wurden dann mittels des Fadens am Haken *g* befestigt.

War der Apparat in Betrieb gesetzt, so zeigte das Thermometer in *D* anfänglich eine um ungefähr 2° niedrigere Temperatur wie in *A*, doch waren nach einigen Minuten die Temperaturen in *A* und *b* dieselben.

Formaldehyd wurde als erstes Desinfektionsmittel untersucht, das in durch Trillat 1892 in die praktische Desinfektion eingeführt und als ein ausgezeichnetes Oberflächendesinfiziens anerkannt worden ist und in der Zimmerdesinfektion mittels der verschiedenen Verfahren (Trillatscher Autoklav, Scherings Lampe, Autanverfahren usw.) angewendet wird.

Beim Rubnerschen Verfahren muß man darauf acht geben, daß bei der Verdampfung Formaldehyd zurückgehalten wird, was nach Brun (12) geschieht, wenn die Lösung konzentrierter ist. Je konzentrierter die ursprüngliche Lösung, desto mehr Formaldehyd geht relativ in den Dampf über.

Auerbach und Barchall (13) haben nachgewiesen, daß die Konzentration des Dampfes bei dem Gebrauch des Formaldehyds geringer ist als die der ursprünglichen Lösung. Die Unterschiede zwischen beiden nahmen mit steigender Konzentration zu. Zu einer Konzentration der Lösung gehört die folgende Dampfkonzentration:

2,35 Gewichtsproz.	2,0
8,2	6,2
40,9	23,3

Immer wurden also die Bakterien abgetötet. Es war aber möglich, daß Formaldehyd mit den Papierstreifen in die sterile Bouillon gebracht wurde und dort das Wachstum der Bakterien verhinderte.

Um dies festzustellen, wurde ein Blankoversuch angestellt, wobei ich statt der Papierstreifen mit Bakterien gewöhnliche Papierstreifen

nahm und diese den Formaldehyddämpfen aussetzte. Nach dem Versuch wurde untersucht, ob die Papierstreifen auch Formaldehyd enthielten, wozu ich ein Reagens benutzte, welches das städtische Gesundheitsamt zu Amsterdam zur Kontrolle der Zimmerdesinfektion mittels Formaldehyds in folgender Weise verwendet (14).

Die ersten Versuche mit Formaldehyd gaben folgendes Resultat:

Konzentration der Lösung 9 Proz.	Temp. 60°	Druck 148 mm	Zeit der Einwirkung 10 Min.	Wachstum negativ
4 1/2	60°	148 "	5 "	"
		148 "	3 "	"
		124 "	10 "	"
		124 "	5 "	"
1	75°	124 "	3 "	"
		281 "	10 "	"
		281 "	5 "	"
		281 "	3 "	"
9	55°	90 "	10 "	"
		90 "	5 "	"
		90 "	3 "	"

Die Papierstreifen, die wahrscheinlich Formaldehyd enthalten, wurden in Reagenzröhrchen gebracht, worin durch Schwefelsäure etwas sauer reagierendes Wasser war, in welchen man dieselben 2 Std. stehen ließ. Von dem Inhalt jedes Röhrchens wurde 1 ccm in ein kleines Reagenzröhrchen gebracht, dem 2 ccm einer Flüssigkeit, bestehend aus 1000 ccm destill. Wasser, 10 g Chlorcalcium und 4 mg Niträs nitricus zugefügt wurden. Hierauf wurde jedem Röhrchen 1 ccm gewöhnlicher, nicht pasteurisierter Milch zugesetzt, und die Röhrchen wurden dann, nachdem die Flüssigkeit und die Milch zugesetzt waren, geschüttelt und nachher vorsichtig dem Rande entlang 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Auf der Scheidefläche zwischen Schwefelsäure und Milchlösung entsteht bei Anwesenheit von Formaldehyd ein violettfarbiger Ring, dessen Intensität von der Quantität des Formaldehyds abhängig ist.

Der Versuch ergab, daß wirklich in den Papierstreifen Formaldehyd anwesend war.

Nun wurden dieselben, nachdem sie den Formaldehyddämpfen ausgesetzt gewesen waren, in Dämpfe von Ammoniak gebracht, hierin 5 Min. gelassen und danach die Impfung in die sterile Bouillon vorgenommen. Vorher wurde natürlich durch einige Versuche festgestellt, daß Ammoniakdämpfe in einer Zeit von 5 Min. keine abtötende Wirkung auf die Versuchsbakterien ausüben, worauf neue Versuche unternommen wurden:

Konzentration der Lösung 18 Proz.	Temp. 75°	Druck 300 mm	Zeit 10 Min.	Wachstum negativ
18	60°	148 "	5 "	"
			3 "	"
			10 "	"
			5 "	"
9	77°	200 "	3 "	"
			10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
18	62°	148 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"

Konzentration der Lösung 18 Proz.	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
	57°	115 mm	10 Min.	negativ
			5 "	"
			3 "	"
0 "	62°	158 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
0 "	75°	117 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
2 "	65°	95 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
2 "	60°	85 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
2 "	55°	75 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
1 "	80°	338 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
Neuer, gramfester Staphylococcus:				
1 Proz.	60°	133 mm	10 Min.	negativ
			5 "	"
			3 "	"
1 "	55°	116 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
1 "	62°	154 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"
1 "	50°	85 "	10 "	"
			5 "	"
			3 "	"

Eine  $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung von Formaldehyd hatte sogar in dem oben genannten Zeitraum unter denselben Versuchsbedingungen noch abtötende Wirkung auf die Staphylokokken.

Hierauf wurde ein Versuch mit gewöhnlichem Wasser gemacht, wobei es sich ergab, daß die Bakterien innerhalb 3 Min. bei 60° abgetötet wurden, nach 10 Min. bei 50° aber noch am Leben waren.

Staphylokokken sind also für diese Versuche nicht geeignet, da sie zu schnell abgetötet werden.

Es mußte daher eine andere Bakterie zu dem Versuche gewählt werden, wozu ich den *Bacillus mesentericus* nahm. Die Resistenzbestimmung desselben ergab, daß er innerhalb 10 Min. bei 100° abgetötet wurde, unter denselben Bedingungen aber nach 8 Min. noch am Leben war. Im Anfange der Versuche wurde sterilisierter Sand mit einer Emulsion des *Mesentericus* angewendet. Dieses Verfahren gab aber Anlaß zu großen Versuchsfehlern. Der Sand wurde in das Drahtnetz gebracht; das Einbringen desselben in die sterile Bouillon war aber ziemlich beschwerlich, da der Sand feucht geworden war. Infolge des Feuchtwerdens war es auch fraglich, ob die inneren Teile des Sandes wohl genügend mit der desinfizierenden Flüssigkeit zusammengekommen waren, weswegen Granaten genommen wurden, an die eine Emulsion des *Bacillus mesentericus* angetrocknet war, und nun aufs neue Versuche mit Formaldehyd angestellt. Die Resultate waren:



Konzentration der Lösung	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
18 Proz.	80°	332 mm	1 1/4 Std. 25 Min.	negativ
9 „	70°	220 „	10 „ 30 „ 20 „	„ „ „
9 „	55°	110 „	10 „ 30 „ 20 „	„ „ „
4 1/2 „	50°	61 „	10 „ 30 „ 20 „	„ positiv „
4 1/2 „	60°	125 „	10 „ 30 „ 20 „	„ negativ „

Die Bakterien bleiben also bei 4 1/2-proz. Formaldehyd noch am Leben nach 30 Min. bei 50°, starben aber bei derselben Konzentration in 20 Min. bei 60°.

Hierauf machte ich Versuche mit dem Thymol: Dieses Methyl-Iso-propyl-Phenol ist ein aus Kristallen bestehender Stoff, sehr schwer löslich in Wasser (ungefähr 1 auf 1200) und schmilzt schon bei 50° C. Christian hob die desinfizierende Wirkung desselben sehr hervor, was an und für sich unverständlich ist, weil nicht anzunehmen ist, daß, sogar bei starkem Zusatz von Thymol zu Wasser, viel Thymol in Dampf übergeht. Da Thymol, wie erwähnt, schon bei 30° C schmilzt, ist es zwar möglich, es im Wasser von dieser Temperatur zu emulsionieren; eine richtige Lösung wird man aber niemals bekommen. Es ist dann auch, physikalisch gesprochen, unverständlich, wie man von Konzentrationen von 10 Proz. und dergleichen reden kann, da doch niemals im Dampf eine höhere Konzentration erreicht werden kann, als die Löslichkeit im Wasser es zuläßt.

Ich habe meine Versuche daher so gemacht, daß ich eine genügende Menge Thymol dem Wasser im Kolben zusetzte, ohne mit der eventuellen Konzentration zu rechnen. Die Ergebnisse sind folgende:

Dem Wasser zu- gefügte Menge	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
5 g zu 200 Wasser	70°	210 mm	30 Min. 20 „ 10 „ 5 „	positiv „ „ „
5 g zu 200 Wasser	80°	353 „	30 „ 20 „ 10 „ 5 „	„ „ „ „
4 g zu 200 Wasser	75°	262 „	30 „ 20 „ 10 „ 5 „	„ „ „ „
4 g zu 200 Wasser	80°	180 „	1 Std. 1 1/4 „ 1 1/2 „	„ „ negativ

Die Versuchsbakterien sterben also erst nach 1 1/4 Std. bei Zusatz von 4 g Thymol zu 200 Wasser bei 80° ab.

Vergleicht man diese Zeiten mit denjenigen beim Formaldehyd, so ergibt sich, daß der Wert des Thymols für die Desinfektion gegen den

des Formaldehyds weit zurücksteht. Da aber die Resultate anderer Autoren deutlich auf einen höheren Wert hinwiesen, stellte ich noch einen Versuch an, wobei dem Wasser mehr Thymol zugesetzt wurde, mit folgendem Ergebnis:

10 g zu dem Wasser 10 g	Temp. 80°	Druck 340 mm	Zeit ¾ Std.	Wachstum negativ
----------------------------	--------------	-----------------	----------------	---------------------

Bei einem Zusatz von 10 g erniedrigte sich unter gleichen Bedingungen wie bei einem Zusatz von 4 g die Abtötungszeit um ½ Std. Da dies nun, wie schon erwähnt ist, physikalisch geredet, unmöglich ist, nehme ich an, daß, wenn in dem Kolben A dem Wasser viel Thymol zugesetzt wird, bei dem Kochen desselben mit dem Dampfe kleine, reine Thymolteilchen mitgerissen werden, so zu den Versuchsbakterien gelangen und desinfizierend wirken. Um dieses zu verhindern, wurde bei den folgenden Versuchen zwischen Kolben D und A eine mit Glaswolle gefüllte Glaskugel (c) eingeschaltet, wodurch verhindert wurde, daß mechanisch Thymolteilchen mitgerissen wurden. Das Ergebnis war:

Dem Wasser zugesetzt 10:200	Temp. 80°	Druck 310 mm	Zeit ¾ Std.	Wachstum positiv
--------------------------------	--------------	-----------------	----------------	---------------------

Also war jetzt keine desinfizierende Wirkung mehr zu beobachten, weshalb bei den weiteren Versuchen die Glaskugel im Apparat gelassen wurde.

Von den ätherischen Oelen wurden zuerst mit dem Terpentin Versuche gemacht, die aber nicht leicht sind. Mischt man nämlich Terpentin mit Wasser, so bekommt man eine Emulsion, bei deren Verdampfung zuerst das Terpentin überdestilliert, was daran erkenntlich ist, daß in der Waschflasche eine milchweiße Emulsion entsteht, worauf klares Wasser übergeht. Ist also zu wenig Terpentin zugesetzt worden, so kann man eigentlich nach einer bestimmten Zeit nicht mehr von einer Terpentindesinfektion reden, wie durch mehrere Versuche erwiesen wurde, bei denen sich ergab, daß, wenn gleiche Teile Terpentin und Wasser genommen wurden, nach 2 Std. noch Terpentin überdestilliert:

Menge	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
10:200	80°	260 mm	30 Min.	positiv
			20 "	"
			10 "	"
10:200	80°	265 "	1 Std.	"
40:200	80°	265 "	1 "	"
100:200	80°	248 "	1 "	"

Resultate sind also mit Terpentin nicht erreicht worden, weshalb nun Karbolsäure genommen wurde, die bekanntlich leicht löslich im Wasser ist und im Dampfe die gleiche Konzentration wie in der Lösung behält. Letztere wurde aus Phenolum liquefactum hergestellt:

Konzentration	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
10 Proz.	80°	300 mm	1 ½ Std.	positiv
			1 "	"
			¾ "	"
			30 ¾ Min.	"
			20 "	"
			10 "	"
20 Proz.	80°	320 mm	1 Std.	negativ
			½ "	positiv

Ein Kontrollversuch mit reinem Wasser unter denselben Bedingungen ergab bei Karbolsäure Abtötung:

Wasser	Temp.	Druck	Zeit	Wachstum
	80°	300 mm	1 1/2 Std.	positiv

Die Karbolsäure ist also bei einer Konzentration von ca. 20 Proz. und einer Temperatur von 80° innerhalb 1 Std. imstande, die Versuchsbakterien abzutöten, hat daher wegen der hohen Konzentration und der ziemlich langen Zeitdauer keinen Wert für die Praxis der Desinfektion.

Ich schließe daher, daß von allen zum Rubnerschen Verfahren benutzten Stoffen das Formaldehyd allein allen Bedingungen entspricht, und daß aus meinen Versuchen hervorgeht, daß dieser Stoff der einzige ist, welcher für dieses Verfahren Wert hat.

März 1920.

#### Literatur.

- 1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. S. 567. — 2) Hyg. Rundsch. 1903. S. 281. — 3) Die kombinierte Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und heißen Wasserdampfes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. S. 232.) — 4) Experimentelle Beiträge zur Formaldehyd-Wasserdampfdesinfektion. (Ebenda. Bd. 34. S. 170.) — 5) Ueber das Absterben von Bakterien beim Kochen unter erniedrigtem Druck. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. S. 323.) — 6) Die wissenschaftliche Grundlage einer Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasserdämpfe und flüchtige Desinfektionsmittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck. (Arch. f. Hyg. Bd. 56. S. 241.) — 7) Untersuchungen über die Erwärmung poröser Objekte durch gesättigte Wasserdämpfe bei künstlich erniedrigter Siedetemperatur. (Ebenda. Bd. 56. S. 210.) — 8) Xyländer, Die Desinfektion von Büchern mittels feuchter heißer Luft und gesättigter niedriger Temperatur unter Vakuum strömender Formaldehyd-Wasserdämpfe. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 29. II. S. 288.) — 9) Grassberger, Die Desinfektion in Theorie und Praxis. Leipzig (S. Hirzel) 1913. — 10) Christian, Die biologische Wirkung der Desinfektion durch vereinigte Wirkung gesättigter Wasserdämpfe und flüchtiger Desinfektionsmittel bei künstlich erniedrigtem Luftdruck. (Hyg. Rundsch. 1907. S. 841.) — 11) Krönig, B., u. Paul, Th., Die chemische Grundlage der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. S. 1.) — 12) Ebenda. Bd. 30. S. 201. — 13) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 22. 1905. S. 584. — 14) Verslag Amsterdamsche Gezondheidsdienst. 1906.

#### Inhalt.

- Bitter, Ludwig**, Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein. Mit 1 Kurve im Text, S. 110.
- v. Linden, Gräfin**, Die entwicklungshemmende Wirkung von Kupfersalzen auf Krankheit erregende Bakterien, S. 136.
- Loewenhardt, Felix E. R.**, Zur Aetiologie der Influenza, S. 81.
- Lubinski, Herbert**, Bakteriologische Untersuchungen über Wunddiphtherie, S. 96.
- Saul, E.**, Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXIII. Mit-

teilung. (Hufkrebs-Geschwulst. — Botryomykom. — Plexus-Cholesteatom. — Melano-arkom des Auges und Gliosarkom des Auges.) Mit 14 Abbildungen im Text, S. 126.

**Stokvis, C. S.**, Desinfektion bei künstlich erniedrigtem Kochpunkte unter Anwendung flüssiger Desinfizientia. Mit 1 Abbildung im Text, S. 166.

**Voigt, Gerhard**, Untersuchungen über die praktische Verwendbarkeit der Anreicherungs-methode mittels Antiformin zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum, S. 121.

Frommannsche Buchdruckerei Hermann Pöhlke in Jena.

*Nachdruck verboten.*

## Zum Nachweis der Milzbranderreger im Fischmehl.

Von Dr. Meyer,

vorm. Assistent am Hygienischen Institut der tierärztlichen Hochschule zu Dresden.

Das Fischmehl ist wegen seines hohen Gehaltes an verdaulichen Nährstoffen und des dabei verhältnismäßig geringen Preises in den letzten Vorkriegsjahren in immer steigendem Umfange als Beifutter für Schweine in Aufnahme gekommen. Mit zunehmendem Verbräuche des Fischmehles als Schweinefutter haben sich aber auch die Klagen über die Schädlichkeit dieses wertvollen Futtermittels gehäuft. Hauptsächlich sind Beimengungen tierpathogener Keime als Ursache der nach Verfütterung von Fischmehl beobachteten Verluste beschuldigt worden.

So ist es Miessner (1), Foth und Schubert (2), Zwick (3), Miessner und Lütje (4), Jaenisch (5) tatsächlich gelungen, Milzbrandkeime im Fischmehl nachzuweisen. Schmitt und Kopp (6) führen eine Massenerkrankung an Milzbrand mit sehr großer Wahrscheinlichkeit auf eine Verfütterung eines Fischmehlgemenges zurück. Da Fischmehl wegen der Gefahr des Tranigwerdens von Speck und Fett üblicherweise nur in geringen Mengen verfüttert wird, dürfte im allgemeinen eine Schädigung von Mehl, das nur aus getrockneten Fischen hergestellt und nicht nachträglich verdorben ist, kaum in Frage kommen.

Leider kommt aber das Fischmehl vielfach nicht rein in den Handel. Vielmehr ist es sehr oft mit Erde oder Staub verunreinigt oder mit anderen Futtermitteln vermischt. Besonders beachtenswert sind Mischungen von Fischmehl mit Produkten aus Kadaververwertungsanstalten. Es herrscht in der Literatur nur eine Meinung, daß aus Beimengungen das Vorkommen von Milzbrandsporen im Fischmehl zu erklären ist. Glage (7) und Greve (8) nehmen dabei an, daß das an Gräten reiche Fischmehl die Verletzungen setze, die die Eintrittspforten für die Milzbranderreger bilden. Diese Infektionspforten liegen nach Nieberle (9) mit Vorliebe in den Tonsillen und im Bereiche des Dünndarms. Da wohl anzunehmen ist, daß Milzbrandkeime im Meerwasser nicht in solchen Mengen vorhanden sind, daß sein Verdunstungsrückstand erhebliche Mengen enthält, und da die Fische andererseits für Milzbrand unempfindlich sind, so ist es auch ohne weiteres verständlich, daß reines Fischmehl frei von Milzbrandkeimen ist. Es kann dies auch gar nicht anders erwartet werden, da ja das Fischmehl fast ausschließlich aus Seefischen oder deren Teilen, die zum Genusse für Menschen nicht dienen, bereitet wird. Daß Süßwasserfische — und auch Meeresfische — Träger von Milzbrandkeimen sein können, wie Versuche von Miessner und Lütje (10) lehren, beweist nichts dagegen. Die eigens dazu angestellten Versuchsbedingungen finden sich in freier Natur nicht, wie dies auch Stern (11), Glage (12) und andere hervorheben.

In den schon Eingangs erwähnten Fällen führen die Autoren das Vorkommen von Milzbrandern im Fischmehl auf eine Verunreinigung mit Erde u.w. zurück. Aus Gemengen von Fischmehl mit russischer Gerste, Mais, Fleischmehl, Knochenmehl und dergleichen haben Schlegel (13), Heffter (14), Greve (15), Niens (16), Jaenisch (17), Zwick (18) Milzbrand nachgewiesen. Vor allem soll nach Glage (19) das ostindische Knochenmehl und Knochenschrot eine bedeutende Quelle für Milzbranderreger in Fischmehl bilden.

Der Nachweis von Milzbrandkeimen in Proben des die Erkrankung vermittelnden Futters ist nicht ohne erhebliche Schwierigkeiten, wie allseitig besonders hervorgehoben wird. Sie bestehen einerseits im Vorkommen vieler anderer resistenter Keime (Sporenbildner) im Fischmehl, die die Ergebnisse des Kulturverfahrens und Tierversuches beeinträchtigen, andererseits darin, daß im Fischmehl oft milzbrandähnliche Keime vorhanden sind, die bei den einfachen bakteriologischen Untersuchungsmethoden sehr wohl echten Milzbrand vortäuschen können. Während Jaenisch (20), Kaestner (21),

Foth und Schubert (22) allein durch das Plattenverfahren Milzbrand von milzbrandähnlichen Bazillen glauben trennen zu können, fordern Fiscoeder (23), Francke und Profé (24), Enoch (25), Zwick (26), Schubert (27), Köhler (28) neben dem Plattenverfahren noch den Tierversuch. Miessner und Lütje (29) verwerfen das Plattenverfahren und auch den serologischen Nachweis und stützen sich allein auf den Tierversuch, für den sie allerdings große Versuchsreihen für nötig erachten. Der Tierversuch allein kann aber für eine Diagnosenstellung nicht ausschlaggebend sein, da außer Milzbranderreger noch andere pathogene Keime im Fischmehl vorkommen können. So haben Miessner und Lange (30) ein pathogenes Bakterium im Fischmehl festgestellt, das sie mit dem Namen *Diplobacillus capsulatus* belegten und dessen Pathogenität erneut von Collin (31) bestätigt wurde.

Wie schon erwähnt und wie wir weiterhin noch sehen werden, enthält das Fischmehl sehr oft milzbrandähnliche Keime, so daß auch die Präzipitationsmethode nach Ascoli bzw. deren Modifikation nach Schütz-Pfeiler (32) kein sicheres diagnostisches Hilfsmittel darstellt; denn, wie Pfeiler und Drescher (33), Zingle (34), Köhler (35) durch ihre Versuche ermittelt haben, bedingen auch „Pseudomilzbrandbazillen“ in vielen Fällen einen positiven Ausfall der Präzipitation.

Da beim Plattenverfahren unter Verwendung des gewöhnlichen Nährbodens das Angehen schnell und ausbreitend wachsender Kolonien stört, und da das Auftreten von milzbrandähnlichen Keimen zu Irrtümern führen kann, ist es für den vorliegenden Zweck als unbrauchbar zu bezeichnen.

Der Tierversuch allein erfordert, wie schon hervorgehoben, sehr viele Versuchstiere, wenn er beweisend sein soll, da ja nur mit einer sehr geringen Menge von Milzbrandsporen gerechnet werden muß, ganz abgesehen davon, daß viele Versuchstiere durch fakultative Parasiten oder toxische Ursachen interkurrent sterben. Bisher haben also die sonst üblichen Methoden des Milzbrandnachweises sich bei der Untersuchung von Milzbranderreger im Fischmehl nicht bewährt.

Jaenisch (36) hat nun 1914 — zur Zeit unserer Arbeiten über diese Frage — einen Beitrag zum Nachweis von Milzbrand veröffentlicht, der uns anregte, Jaenischs Methode zum Nachweis von Milzbrand in Fischmehl zu versuchen. Jaenisch geht von dem Gedanken aus, einen Nährboden in Anwendung zu bringen, der eine elektive Wirkung auf Milzbrand ausübt, also dessen Keime zur Entwicklung bringt, während er andere Bakterien in ihrem Wachstum hindert oder wenigstens hemmt. Nach Jaenisch wächst der Milzbrandbazillus auf einem besonders modifizierten Endo-Nährboden, der andererseits die saprophytischen Sporenbildner in ihrer Entwicklung beeinträchtigt. Die Änderung der Endoschen Originalvorschrift besteht darin, daß Jaenisch statt 1 Proz. 10 Proz. Pepton und an Stelle von 3 Proz. 4 Proz. Agar nimmt. Da die Milzbrandbazillen am üppigsten auf eiweißhaltigen Nährböden gedeihen, soll der vermehrte Peptonzusatz die durch das Fuchsin bedingte Wachstumshemmung ausgleichen.

Zu unseren Versuchen haben wir zunächst unsere im Institut seit Jahren weitergezüchteten Stämme von Milzbrand und Pseudomilzbrand verwandt.

Der Endosche Nährboden ist genau nach Vorschrift unter Anwendung oben erwähnter Abweichungen hergestellt worden. Der nur kurze Zeit haltbare Nährboden wurde rasch hintereinander aufgebraucht. Die Reduktion des Fuchsinfarbstoffes mittels einer frisch hergestellten 10-proz. Natriumsulfidlösung wurde stets unmittelbar vor dem Gebrauch durchgeführt.

Es ist unbedingt erforderlich, daß das Fuchsin völlig reduziert ist, d. h. der Nährboden soll nahezu farblos, höchstens schwach rosafarben sein, anderenfalls entwickeln sich überhaupt keinerlei Keime. Ebenso

läßt ein allzu reicher Zusatz von Natriumsulfitlösung keinerlei Wachstum aufkommen.

Wir haben gefunden, daß bei Ausführung der Reduktion genau nach Jaenischs Vorschrift — 25 ccm 10-proz. Natriumsulfitlösung auf 1 l Endo-Nährboden — der Nährboden noch eine intensive Rotfärbung aufweist und nach weiter oben Gesagtem auch die Keimentwicklung völlig ausbleibt. Erst bei einem Zusatz von 45 ccm derselben Lösung auf 1 l Nährboden erzielten wir das Optimum sowohl nach Zahl der Keime als auch nach Größe und Schnelligkeit der Entwicklung. Welche Ursachen in unserem Falle diese Änderung hervorgerufen haben, muß dahingestellt bleiben; es wurde der Vorschrift entsprechend nur unverwittertes Natriumsulfit verwendet.

Bei der Anordnung der Versuche sind wir in der Weise vorgegangen, daß wir, ausgehend von einer 24-stünd. Reinkultur unseres Milzbrand- und Pseudomilzbrandstammes und verschiedener eigens zu diesem Zwecke gezüchteter Heubazillen- und Mesentericus-Stämme, uns eine gleichmäßige Aufschwemmung der jeweiligen Bazillen herstellten. Eine Normalöse (2 mg) wurde in 10 ccm steriler Bouillon durch häufiges Umschütteln möglichst gleichmäßig verteilt. Je eine Normalöse dieser Bouillonaufschwemmung diente nun zur Infektion je einer Platte. Der entleerte Tropfen wurde mittels keimfreien Glasstabes über die ganze Oberfläche verteilt. Alle Versuche wurden doppelt ausgeführt und außerdem wurden zur Beurteilung der elektiven Wirkung auch mit demselben Ausgangsmaterial gewöhnliche Agarplatten in gleicher Weise beschickt.

Eine große Reihe von Serien erwiesen nun ausnahmslos die elektive Wirkung des Endoschen Nährbodens für Milzbrand- und Pseudomilzbrandbazillen, während die anderen Sporenbildner stark in ihrer Entfaltung zurückblieben. Die Platten, auf denen Milzbrand und Pseudomilzbrand ausgesät waren, zeigten schon nach 8 Std. bei ca. 200-facher Vergrößerung typisch entwickelte Kolonien, gewellt und in Fäden auslaufend (Medusenhaut). Nach Verlauf von 24 Std. hatten sie das Aussehen und die Größe der Kolonien erreicht, wie sie auf gewöhnlichen Agarplatten nach der gleichen Zeit in die Erscheinung traten. Die übrigen, nicht pathogenen Sporenbildner hingegen gelangten meist gar nicht zur Entwicklung. In den vereinzelt Fällen, in denen sie aufgingen, blieben sie hinter den auf Agarplatten gewachsenen Kolonien bedeutend zurück. Um festzustellen, ob das Wachstum der Milzbrandbazillen durch gleichzeitiges Wachstum der anderen verwendeten Bazillenstämme beeinflusst wird, wurden Platten mit Gemischen von mehreren oder allen der in unseren Versuchsreihen angewandten Bazillen infiziert. Aber auch bei allen diesen Versuchen trat die günstige elektive Wirkung des modifizierten Endo-Nährbodens hervor. Milzbrand und auch Pseudomilzbrand entwickelten sich üppig und charakteristisch. Die Bildung kometenschweifartiger Ausläufer war schon mit unbewaffnetem Auge, und die Lockenbildung bei schwacher Vergrößerung deutlich erkennbar.

Zur besseren Uebersicht sind die Resultate in folgender Tabelle zusammengestellt. Die Ergebnisse sind nach 24-stünd. Bebrütung bei 37° abgelesen worden.

Unser Milzbrandstamm tötete weiße Mäuse in 28 Std. (1 Normalöse von 2 mg einer 24-stünd. Bouillonkultur). Er ist unbeweglich und zeigt mikroskopisch und kulturell alle Merkmale des echten Milzbrandes.

Bakterienstämme, die zur Infektion der Platten dienten	Endo-Agar modifiziert nach Jaenisch			Kontrolle mit gewöhnlichem Agar
	Normal reduziert, farblos bis schwach rosa	Zu wenig reduziert, ausgesprochene Rotfärbung	Zu stark reduziert, Färbung gleicht dem Farbton der Agarplatte	
I. Milzbrand	++	—	—	+
II. Pseudomilzbrand	++	—	—	+
III. Heubazillus (Orig. aus Heuaufguß)	—	—	—	++
Der Heubazillus zeigt verschiedene Kolonien:				
a) große, rundliche,	—	—	—	++
b) kleine, rundliche,	—	—	—	++
c) baumförmig verästelte	—	—	—	++
IV. Bacillus mesentericus	—	—	—	++
Auf Agar verschied. Kolonien zeigend:				
a) große, runde,	—	—	—	++
b) kleine, runde	—	—	—	++
I + II	I +; II +	—	—	I +; II +
I + IIIa + IIIb + IIIc	I +; Sp von IIIa, b, c	—	—	I Sp; IIIa, b, c +
I + IIIa	I +; IIIa —	—	—	I Sp; IIIa +
I + IIIb	I +; IIIb Sp	—	—	I +; IIIb +
I + IIIc	I +; IIIc Sp	—	—	I Sp; IIIc ++
I + IVa + IVb	I ++; IVa + b Sp	—	—	I Sp; IVa + b +
I + IVa	I +; IVa Sp	—	—	I —; IVa ++
I + IVb	I +; IVb Sp	—	—	I Sp; IVb +
I + III + IV	I +; III Sp; IV Sp	—	—	I Sp; III +; IV +
I + II + III + IV	I +; II Sp; III Sp; IV Sp	—	—	I Sp; II +; III +; IV +
II + IIIa	II +; IIIa Sp	—	—	II Sp; IIIa +
II + IIIb	II +; IIIb Sp	—	—	II Sp; IIIb +
II + IIIc	II +; IIIc Sp	—	—	II Sp; IIIc +
II + IVa	II +; IVa Sp	—	—	II Sp; IVa +
II + IVb	II +; IVb Sp	—	—	II Sp; IVb +
II + III + IV	II +; III Sp; IV Sp	—	—	II Sp; III +; IV +
III + IV	—	—	—	III ++; IV ++

Zeichenerklärung: + zahlreiche Kolonien, ++ sehr viele Kolonien, — keine Kolonien, Sp sehr wenig Kolonien.

Unser Pseudomilzbrandstamm tötete weiße Mäuse nicht (dieselbe Infektion). Er ist eigenbeweglich, verflüssigt Gelatine stark, trübt Bouillon, bildet reichlich Sporen und ist gramfest.

Die Heubazillen hatten wir uns aus einer Heuaufschwemmung herausgezüchtet. Die beiden Mesentericus-Arten stammten von einer Kartoffelkultur. Auch diese wurden vorher auf ihre Identität geprüft. Sie waren eigenbeweglich, sporenbildend, gramfest, aerob, und verflüssigten Gelatine. Mesentericus bildete außerdem noch braunen Farbstoff.

Um uns noch weiterhin von der Brauchbarkeit der elektiven Wirkung des in Frage stehenden Nährbodens zu überzeugen, untersuchten wir beliebig Erd- und Kotproben. Wir verfahren dabei so, daß kleine Mengen Gartenerde oder Kuhkot in sterilem Wasser aufgeschwemmt wurden. Zwecks Abtötung der vegetativen Keime wurden die Aufschwemmungen  $\frac{1}{2}$  Std. auf 80° im Wasserbade erwärmt. Platten mit modifiziertem Endo-Nährboden und gewöhnlichem Agar wurden dann mit je einer Normalöse (2 mg) beschickt. Die Agarplatten zeigten na-

türlich in allen Fällen zahlreiche Kolonien verschiedenster Art, ließen hin und wieder auch einige milzbrandähnliche Oberflächen- und Tiefenkolonien erkennen, während die Endo-Platten fast ausnahmslos nur milzbrandähnliche Kolonien aufwiesen, sofern sie nicht überhaupt ganz keimfrei blieben.

Da der hohe Prozentgehalt des Peptons (10 Proz.) des modifizierten Endo-Agars die Methode recht teuer gestaltete, versuchten wir mit dem von Endo vorgeschriebenen 1 Proz. Pepton auszukommen. Bei einem Vergleich des Endo-Agars mit 1 Proz. Pepton- und 4 Proz. Agargehalt mit der Modifikation Jaenischs mit 10 Proz. Pepton stellte sich heraus, daß der Erstgenannte dem Jaenischschen Nährboden gleichwertig war. Danach kann also der 1 Proz. Pepton und 4 Proz. Agar enthaltende Endo-Nährboden mit demselben Vorteil Anwendung finden, wie die Modifikation nach Jaenisch.

Bei der Durchführung aller unserer Versuche haben wir gleichzeitig unser besonderes Augenmerk darauf gerichtet, ob es mit einiger Sicherheit möglich ist, mit Hilfe des Fuchsinagars echten Milzbrand vom Pseudomilzbrand zu unterscheiden.

Jaenisch gibt in seinem Beitrag an, daß eine Reihe der milzbrandähnlichen Kolonien Rötung zeigen, die vielfach in Gestalt eines kleinen rötlichen bis roten Fleckes in der Mitte auftritt, daß hingegen der echte Milzbrand niemals die für den Farbumschlag erforderliche Menge Säure bilde und mithin den bräunlichen Farbton des Nährbodens annahm. Einesteils wuchsen die Pseudomilzbrandbazillen nicht so deutlich rot, daß es mit Sicherheit von den anfangs meist farblos wachsenden echten Milzbrand zu trennen war und andererseits zeigten nach einigen Tagen alle Kolonien, gleichgültig welcher Art, in mit dem Alter der Kultur steigendem Maße Rötung.

Ebensowenig vermochten wir die Diagnose durch Musterung der Plattenkolonien bei schwacher Vergrößerung zu sichern. Es darf wohl als bekannt vorausgesetzt werden, daß die Milzbrandkolonien makroskopisch durch grauweißes Aussehen, wenig scharfe Umgrenzung und kometenschweifartige Ausläufer und bei schwacher Vergrößerung durch Haarlockenbildung charakterisiert sind. Ein ebensolches Aussehen zeigen nun auch Pseudomilzbrand und verwandte Bakterien, wenn auch nach der allgemeinen Anschauung mit der Einschränkung, daß ihre Randpartien schärfer umgrenzt sind und ihr Inneres eine dichte Struktur aufweist. Wenn nun auch nicht zu verkennen ist, daß die echten Milzbrandkolonien in allen Teilen eine etwas feinere und gleichmäßigere Lockenbildung zeigen, so ist doch der Unterschied bei weitem nicht so auffallend, daß man daraufhin eine sichere Unterscheidung treffen könnte. Bei einzelnen Pseudomilzbrandstämmen, die wir aus der Erde gezüchtet hatten, fanden wir eine ebenso feine und gleichmäßige Lockenbildung, daß wir sie als echten Milzbrand hätten ansprechen müssen, während wir andererseits auch einzelne Kolonien unseres echten Milzbrandes sahen, deren Zentrum dicht und wenig gelockt war und so Pseudomilzbrand vortäuschen konnte.

Nach unseren Beobachtungen müssen wir sagen, daß die vielfach in der Literatur niedergelegten Unterschiede zwischen Milzbrand und Pseudomilzbrand bei unseren Institutsstämmen und den aus Erde, Kuhkot und auch Fischmehl zufällig gefundenen milzbrandähnlichen Keimen niemals prägnant waren, um zu einer sicheren, alle Zweifel ausschließenden Diagnose zu kommen. Unserer Meinung nach kann bei der Frage, ob



echter Milzbrand oder milzbrandähnliche Bazillen vorliegen, nur der Tierversuch entscheidend sein. Die Beweglichkeit bzw. Unbeweglichkeit und das kulturelle Verhalten der Bazillen stützt die Diagnose.

Nach diesen mehr orientierenden Charakter tragenden Versuchen gingen wir zur Untersuchung der an unser Institut eingesandten Fischmehlproben über.

Außer den üblichen Fütterungsversuchen an weißen Mäusen, Meer-schweinchen und Kaninchen versuchten wir auch mit Hilfe des Platten-verfahrens die Keime festzustellen.

Der Untersuchungsmodus, wie ihn C. Enoch, Hamburg (37) angibt, schien uns der geeignetste. Ca. 200 g der zu untersuchenden Probe wird mit destilliertem Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, den man durch ein Sieb von etwa 1 mm Maschenweite laufen läßt. Die durchgelaufene trübe Flüssigkeit läßt man absetzen, hebt ca. 200 ccm der oben aufstehenden Flüssigkeit ab, bringt diese in einen Rundkolben, den man dann 1 Std. lang in einem Wasserbade von 80° C unter öfterem Umschwenken beläßt. Nach Abkühlung unter kaltem Wasser und Absetzenlassen füllt man mit der über dem Bodensatz stehenden Flüssigkeit ein Zentrifugenröhrchen und zentrifugiert während einiger Minuten bei sehr hoher Tourenzahl ein sehr feines Sediment aus, in dem sich die etwa vorhandenen Keime vorfinden.

Dieses Sediment wird nun auf zweifache Weise weiterverarbeitet. Einmal werden damit etliche Bouillonröhrchen und zum anderen Agarplatten geimpft. Wir haben außerdem noch Endo-Platten geimpft. Die Bouillonröhrchen kommen nun für 12 Std. in den Brutofen bei 37°, wonach Mäuse mit 0,3 und 0,5 ccm dieser Bouillon subkutan geimpft werden. Die Agarplatten werden dagegen nach Enoch auf den Brutofen gestellt bei wenig erhöhter Zimmertemperatur. Vergleichsweise haben wir auch eine Anzahl Agarplatten in den Brutofen verbracht. Von den Agarplatten werden milzbrandverdächtige Kolonien auf Bouillon abgestochen, die nach 12-stünd. Wachstum im Brutofen wie oben an Mäuse verimpft wird.

Liegt Milzbrand vor, dann sterben die Mäuse meist rasch und man erhält vielfach aus dem Herzblut Reinkultur. Oft aber findet man bei der Zerlegung der Mäuse steriles Blut oder es enthält andere Bakterien, die dann wohl die Todesursache sind, während im ersteren Falle eine Intoxikation anzunehmen ist. Nicht allzu selten tritt der Tod infolge malignen Oedems ein. Natürlich ist die Vorsicht geboten, außer Herzblut vor allem noch die Milz und die Impfstelle färberisch und kulturell zu untersuchen, da recht häufig bei Keimfreiheit des Herzblutes hier noch Bakterien festgestellt werden können. Milzbrandverdächtig sind die pathogenen Keime, die noch mikroskopisch im gefärbten Zustande und auch im Bewegungspräparat auf ihre Identität geprüft werden.

4 an unser Institut eingesandte Fischmehlproben wurden in der soeben angegebenen Weise bearbeitet. Von vornherein sei gesagt, daß es uns in keinem Falle gelungen ist, pathogene Keime nachzuweisen. Eine größere Anzahl Impftiere ging ohne nachweisbare bakterielle Ursache ein; vereinzelt wurden auch Kokken oder kurze Stäbchen im Herzblut ermittelt, während Milzbrand nie gefunden wurde. Auf den Platten konnten milzbrandähnliche Kolonien nur bei einem unserer 4 Fischmehle gefunden werden. Die Impftiere dieser Fischmehlprobe blieben gesund. Selbst 1 Normallöse einer Reinkultur dieses gefundenen Pseudomilzbrandes vermochte weiße Mäuse nicht zu töten. Auch die Untersuchung

dieser Fischmehlprobe erwies den Vorteil der Endo-Fuchsinplatte für die bakteriologische Diagnose des Milzbrandes, da auf diesen nur der Pseudomilzbrand gewachsen war, während der gewöhnliche Agar neben dem Pseudomilzbrand zahlreiche andere Keime zeigte.

Wir haben uns bemüht, die von uns in der einen Fischmehlprobe gefundene milzbrandähnliche Bakterienart zu bestimmen. Nach der uns vorliegenden bakteriologischen Diagnostik von Matzschita (1902) stimmte dieser Pseudomilzbrand kulturell noch am ehesten mit dem *Bacillus pseudanthracis* Burri überein. Unsere Bakterienart zeichnete sich noch durch Indolbildung und Schwefelwasserstoffentwicklung aus. Vom *Bacillus anthracis simulans* Wahrlich und *Bacillus anthracoides* Hueppe und Wood unterschied sich unser Bazillus schon durch die Eigenbewegung.

Vom echten Milzbrand war unser Pseudomilzbrand außer dem Fehlen der Pathogenität noch durch lebhaftere Eigenbewegung sicher zu trennen. Im übrigen zeigte er noch folgende Kulturmerkmale: er bildete lebhaft Sporen, wuchs bei Sauerstoffanwesenheit günstiger als unter Buchner-Verschuß, färbbar nach Gram, verflüssigte Gelatine, koagulierte Milch, bildete Schwefelwasserstoff und Indol, vermochte aber Traubenzucker nicht zu vergären.

Die Fütterungsversuche mit unseren Fischmehlen verliefen ergebnislos. Kaninchen und Meerschweinchen wurden 36 Tage mit 20 Proz. Fischmehl enthaltender Kleie ernährt, wobei als Nebenfutter nur geringe Mengen Heu gegeben wurden. Die weißen Mäuse erhielten geriebene Semmel, die ebenfalls zu einem Fünftel mit Fischmehl versetzt wurde. Wasser stand allen Versuchstieren nach Belieben zur Verfügung. Die weißen Mäuse gingen aber zugrunde, sobald sie mit einem Gemenge gefüttert wurden, das aus einem Drittel oder mehr an Fischmehl bestand. Dieser Befund ergab sich auch nach Verfütterung eines gleichen Gemenges mit gekauftem, einwandfreiem Fischmehl.

Um einen Einblick in die Brauchbarkeit des von Enoch angegebenen Untersuchungsganges auf Milzbrand in Fischmehlen zu erhalten, haben wir diesbezügliche Versuche mit Fischmehl angestellt, das absichtlich mit Milzbrandsporen vermengt wurde. Wir versorgten uns von einer bekannten Futtermittelgroßhandlung einwandfreies Fischmehl, in das wir Milzbrandsporen mengten. Zur Herstellung des Milzbrandfischmehles wurden 300 g Fischmehl  $\frac{1}{2}$  Stunde lang vorsichtig unterm Abzug mit 2400 Milzbrandsporen in 6 ccm Flüssigkeit suspendiert verrührt. 200 g dieses noch trockenen Fischmehles wurden zum Plattenverfahren verwandt. Auf den zahlreich angelegten Platten von Agar, Endo-Nährboden nach Jaenisch und dem nur 1 Proz. Pepton enthaltenden modifizierten Endo-Nährboden gingen keine Milzbrandkeime an. Die Impfung weißer Mäuse mit der 12 Stunden bebrüteten Bouillon versagte ebenfalls.

Gleicherweise verliefen auch die Fütterungsversuche an weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen mit den übrigen 100 g des infizierten Fischmehles ergebnislos. Sämtliche Versuchstiere blieben gesund.

In einem weiteren Versuche wurde mit 30 000 Milzbrandsporen in 10 ccm Flüssigkeit suspendiert infiziert. 200 g von diesem Fischmehl wurden nach Enoch's Verfahren verarbeitet. Auf sämtlichen Platten, die je mit einer Oese Bodensatz aus dem Zentrifugenröhrchen beschickt waren, gingen reichlich (im Mittel 76) Milzbrandkolonien auf. Die auf

dem modifizierten Endo-Nährboden zur Entwicklung gekommenen Milzbrandkolonien waren rascher und auch besser als solche zu erkennen im Vergleich mit denen, die auf den gewöhnlichen Agarplatten angegangen waren. Der Infektionsversuch von Mäusen mit den 12-stündigen Bouillonkulturen nach Enoch verliefen bei Verwendung beider Dosen positiv. Die Tiere starben in 24 bzw. 30 Std. an Milzbrand.

Die mit den übrigen 100 g Fischmehl angestellten Fütterungsversuche an weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, die sich auf 20 Tage erstreckten, verliefen hingegen ergebnislos. Die Tiere zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen, behielten ihre Freßlust und ließen selbst lange Zeit nach Abbruch der Versuche keine Symptome einer Milzbrandinfektion erkennen.

Die in beiden Versuchen zur Verwendung gelangte milzbrandsporenhaltige Flüssigkeit, die in 2 Phiolen russischer Herkunft enthalten war, wurde noch besonders auf ihre Virulenz geprüft. Es wurde festgestellt, daß weiße Mäuse nach subkutaner Impfung von  $\frac{1}{1000000}$  nach 30 Std., Meerschweinchen nach gleicher Verimpfung von  $\frac{1}{10000}$  nach 36 Std. und Kaninchen nach Verimpfung von  $\frac{1}{100}$  Normalöse nach 72 Std. an Milzbrand starben. Das zu unseren Versuchen verwandte Material beider Phiolen war mithin gleichmäßig und stark infektiös für unsere Versuchstiere.

Trotzdem haben die Fütterungsversuche in beiden Versuchen bei allen verwendeten Tierarten vollkommen versagt, obwohl in der zweiten Versuchsreihe eine recht erhebliche Anzahl von Keimen zugeführt wurde. Dieser Befund steht in Uebereinstimmung mit der auch sonst bekannten Tatsache, daß die Infektion auf dem Fütterungswege außerordentlich schwer haftet. Deshalb kann der negative Ausfall des Fütterungsversuches nicht als beweisend dafür angesehen werden, daß das in Frage stehende Futtermittel von Milzbrandkeimen frei ist.

Das von Enoch angewandte Untersuchungsverfahren hat in unserer 2. Versuchsreihe den Beweis geliefert, daß es wohl geeignet ist, pathogene Keime ermitteln zu können. Wie schon eingangs erwähnt, ist es aber auch von Zufälligkeiten abhängig, wie uns unser 1. Versuch dartut, in dem es uns weder im Plattenverfahren noch im Tierversuch geglückt ist, Keime nachzuweisen. Die in den 200 g Fischmehl enthaltenen 1600 Keime sind dem Nachweis völlig entgangen. Das mit der Platinöse aus dem Bodensatz des Zentrifugenröhrchens entnommene Material hat wohl rein zufällig keine Sporen enthalten. Je höher aber der Keimgehalt ist, um so günstiger gestaltet sich die Sicherheit, die Milzbrandinfektion aufzudecken.

Zweifelsohne ist das Enochsche Verfahren zum Milzbrandnachweis bei weitem geeigneter als der gewöhnliche Fütterungsversuch, dem es an Schnelligkeit der etwaigen Ermittlung als auch im Hinblick auf die erhöhte Wahrscheinlichkeit, Keime nachzuweisen, überlegen ist. Wie schon hervorgehoben und wie auch unser 1. Versuch lehrt, kann auch mit Hilfe des Enochschen Verfahrens nicht jeder Fall von Infektion des Fischmehles mit Milzbrand ermittelt werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der nach Jaenisch modifizierte Endosche Fuchsinagar recht gut als elektiver Nährboden für Milzbrand anzusehen ist, wenn auch mit der Einschränkung, daß er ebenso elektiv für milzbrandähnliche Keime wirkt und daß er keine klare

Differenzierung zwischen echtem Milzbrand und Pseudomilzbrand und anderen milzbrandähnlichen Keimen gibt. Einfache Fütterungsversuche eignen sich nicht zum Milzbrandnachweis. Die Enochsche Versuchsanordnung ist das zurzeit wohl geeignetste Verfahren zum Auffinden von Milzbrandsporen im Fischmehl u. dgl. Die Sicherheit des Enochschen Verfahrens wird noch durch Verwendung des modifizierten Endoschen Nährbodens zum Plattenverfahren erhöht.

#### Literatur.

- 1) Mießner, Fische als Milzbrandbazillenträger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I; Ref. Bd. 57. 1913. Beih. S. 274.) — 2) Foth u. Schubert, Milzbrandsporennachweis in Fischmehl. (Berliner Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 30. 1914. S. 76.) — 3) Zwick, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 14. 1913. S. 91. — 4) Mießner u. Lütje, Untersuchung über d. Milzbrand b. Schweinen, Fischen u. Ratten. (Archiv f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 44. 1914. S. 249.) — 5) Jaenisch, Ein neuer Fall v. Milzbrandnachweis im Schweinemastfutter. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 24. 1914. S. 55.) — 6) Schmitt u. Kopp, Eine Massenerkrankung an Milzbrand. (Münchn. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 57. Nr. 49.) — 7) Glage, Schweinemilzbrand — Fischmehl — Knochenmehl. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 30. 1914. S. 285. — 8) Greve, Beobachtungen üb. d. Auftreten d. Milzbrandes in d. Herzogt. Oldenburg u. dessen Ursache. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 31. 1915. S. 133.) — 9) Nieberle, Beitr. z. Pathogenese u. patholog. Histol. d. intestinal. Milzbrandes b. Schwein. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 14. 1913. S. 42.) — 10) Mießner u. Lütje, vgl. 4) S. 256. — 11) Stern, Milzbrandkeime i. Fischmehl u. Fische als Milzbrandbazillenträger. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 29. 1913. S. 765.) — 12) Glage, vgl. 7) S. 287.) — 13) Schlegel, Milzbrand b. Schweinen. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 29. 1913. S. 762.) — 14) Heffter, Zum Milzbrande bei Schweinen. (Ibid. Jahrg. 29. 1913. S. 400.) — 15) Greve, Milzbrand b. Schwein. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 23. 1913. S. 433.) — 16) Niens, Diskussionsbeitr. zur Frage d. lokalen Milzbrandes. (Ibid. Jahrg. 23. 1913. S. 435.) — 17) Jaenisch, vgl. 5. S. 59. — 18) Zwick, vgl. 3. S. 94 ff. — 19) Glage, Weitere starke Zunahme des Schweinemilzbrandes. (Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 30. 1914. S. 287.) — 20) Jaenisch, vgl. 5. S. 57. — 21) Kaestner, Ueber einen bei d. bakteriolog. Nachprüfung d. Milzbranddiagnose in Betracht kommend. Pseudomilzbrandbazillus. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 14. 1904. S. 137.) — 22) Foth u. Schubert, vgl. 2, S. 78. — 23) Fiscoeder, Die heutige Hilfsmittel z. Sicherstellung d. Milzbrandes. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 29. 1913. S. 660.) — 24) Franke u. Profé, Zum Nachweis d. Milzbranderreger i. Fischmehl. (Ibid. Jahrg. 30. 1914. S. 231.) — 25) Enoch, Zum Nachweis d. Milzbranderreger i. Fischmehl u. ander. Futtermitteln. (Ibid. Jahrg. 30. 1915. S. 362.) — 26) Zwick, vgl. 3. S. 99. — 27) Schubert, Zum Nachweis d. Milzbranderreger i. Fischmehl. (Ibid. Jahrg. 30. 1914. S. 269.) — 28) Köhler, Die kulturell. Eigenschaft. d. verschieden. Pseudomilzbrandbazillen unt. besond. Berücksichtig. ihres Vorkommens i. Fischmehl. [Inaug.-Dissert.] Hannover 1919. S. 15. — 29) Mießner u. Lütje, vgl. 4. S. 250. — 30) Mießner u. Lange, Ein pathogen. Bakterium i. Fischmehl. (Deutsche Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 21. 1913. S. 745.) — 31) Collin, Ueber ein neues, i. Fischmehl gefunden. pathogen. Kapselbakterium. [Inaug.-Dissert.] Hannover 1919. S. 51. — 32) Schütz-Pfeiler, Der Nachweis des Milzbrandes mittels d. Präzipitationsmethode. (Arch. für wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 38. Berlin 1912. S. 207 u. 311.) — 33) Pfeiler u. Drescher, Untersuchung über d. Beziehungen d. Pseudomilzbrandbazillen zu d. Milzbrandernregern mittels d. Präzipitationsmethode. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 13. 1913. S. 400.) — 34) Zingle, Ueber ein. Befund v. Pseudomilzbrandbazillen i. Fischmehl m. positiv. Ascoliraktion. (Ibid. Bd. 15. 1914. S. 131.) — 35) Köhler, vgl. 28, S. 68. — 36) Jaenisch, Beitrag z. Nachweis v. Milzbrand. (Münchn. med. Wochenschr. 1914. S. 305.) — 37) Enoch, vgl. 25. S. 361.

*Nachdruck verboten.*

## Gutachten über einige Handelspräparate von bakteriellen Ratten- und Mäuse-Vertilgungsmitteln.

Von Prof. Uhlenhuth, zurzeit Berlin-Dahlem (Reichsgesundheitsamt).

Schon vor einigen Jahren habe ich die Beobachtung gemacht, daß die im Handel vorkommenden Kulturen von Mäusetyphusbazillen vielfach außerordentlich stark durch alle möglichen anderen Mikroorganismen verunreinigt waren, so daß ihr Nachweis oft überhaupt nicht mehr gelang. Daß solche Präparate für die Schädlinge absolut unwirksam waren, ist erklärlich. So kommt es auch, daß diese vielfach mit Nutzen Verwendung findenden Präparate leicht in Mißkredit geraten, abgesehen davon, daß auch der Käufer schwer geschädigt wird.

Ich habe nun vor kurzem gelegentlich eines gerichtlichen Gutachtens auf Grund umfangreicher Untersuchungen an einigen derartigen Handelspräparaten, die ich zum Teil gemeinsam mit Herrn Reg.-Rat Dr. Manteufel ausgeführt habe, ähnliche Feststellungen machen können wie früher. Bei der wirtschaftlichen Bedeutung, welche der Ratten- und Mäusevertilgung besonders in jetziger Zeit zukommt, dürfte es nicht ohne Interesse sein, das Gutachten bekannt zu geben.

Auf Grund der Aufforderung des Landgerichts I Berlin vom 24. September 1919 erstatte ich in der Zivilprozeßsache S.-W. folgendes Gutachten:

Nach der Sachlage sind die zu beantwortenden Fragen:

I. Ob die von der Firma S. in den Handel gebrachten Bakterienpräparate „Mäusefort“ und „Rattenfort“ als wirksame Mittel zur Vertilgung von Mäusen resp. Ratten anzusehen sind,

II. ob die genannten Präparate für Menschen und nützliche Tiere unschädlich sind.

Zu I. Das Präparat „Mäusefort“ soll nach den Angaben der Firma zur Vertilgung von Haus- und Feldmäusen dienen, das Präparat „Rattenfort“ zur Vertilgung von Ratten, Hamstern und Wühlmäusen.

Beide Präparate stellen Oberflächenkulturen von bakteriellen Mikroorganismen auf einem in den Abgaberöhrchen schräg erstarrten Nähragar dar. Das Präparat „Mäusefort“ soll als wirksamen Bestandteil den Loefflerschen Mäusetyphusbazillus enthalten.

Dieser Bazillus wurde 1890 als Ursache einer unter den im Hygienischen Institut zu Greifswald gehaltenen Versuchsmäusen beobachteten Seuche von Loeffler entdeckt. Die Virulenz des Mäusetyphusbazillus war eine außerordentlich große und veranlaßte Loeffler, diese Bakterienart zur Vertilgung der Mäuse praktisch zu verwenden. Die Brauchbarkeit dieser Methode bewies die im Jahre 1892 in Thesalien durchgeführte Bekämpfung der Mäuseplage mittels Auslegen von Massenkulturen der Loefflerschen Mäusetyphusbazillen. Der Erfolg war glänzend und gab Veranlassung, sich dieses Mittels zur Vertilgung der Mäuse weiter zu bedienen. Seitdem sind in der Praxis eine große Zahl von Versuchen mit mehr oder weniger guten Resultaten ausgeführt.

Unter den Mäusen sind die Feldmäuse (*Arvicola arvalis*) besonders empfindlich, etwas widerstandsfähiger sind die Hausmäuse und die weißen Mäuse (*Mus musculus*).

Die Mäusetyphusbazillen gehören zu der großen Gruppe der sogenannten Paratyphusbazillen und sind von dem Erreger einer beim Menschen vorkommenden akuten oder typhusähnlichen Darmerkrankung (Paratyphus B), dem sogenannten Paratyphus B-Bazillus, weder kulturell noch durch die serologischen Methoden zu unterscheiden.

Das Präparat „Rattenfort“ enthält nach den Angaben der Firma in ihren Reklameschriften die sogenannten „Rattenpestbazillen“. Diese wurden im Jahre 1900 von Danysz bei einer unter Feld- und Waldmäusen herrschenden Seuche gezüchtet. Da dieser Bazillus sich für Mäuse und besonders auch für Ratten als besonders pathogen erwies, wurde er zur Rattenvertilgung in ausgiebiger Weise benutzt. Dieses Präparat ist identisch mit anderen als Rattenschädlinge in den Handel gebrachten Bakterien, dem Ratin-Bazillus, sowie den von Issatschenko, Dunbar und Trautmann gezüchteten Bazillen sowie dem sogenannten Liverpool-Virus. Alle diese Bakterien gehören ebenfalls zur Paratyphusgruppe, und zwar speziell zu den sogenannten Gärtner-Bazillen, die sich durch die Agglutinationsprobe von der Paratyphus B-Gruppe abtrennen lassen. Kulturell und serologisch sind sie von dieser sowie von dem als Erreger der Fleischvergiftungen von Gärtner entdeckten *B. enteritidis* nicht zu unterscheiden.

Von beiden Präparaten wurden je 7 Proben untersucht, von denen je 6 im Geschäftslokal der Firma S. zu verschiedenen Zeiten freihändig gekauft wurden, während die 7. durch die Bakteriologische Abteilung des Reichsgesundheitsamts auf dem Dienstwege beschafft wurde.

Die Aussaat von Probeentnahmen auf den für die Untersuchung von Kleinlebewesen dieser Art gebräuchlichen Nährböden ergab, daß in allen 14 Röhrchen Mischkulturen enthalten waren, in denen man schon bei oberflächlicher Betrachtung 3—4 verschiedene Arten unterscheiden konnte. Dabei handelte es sich zum Teil um Kokken, zum Teil um Bazillen (z. B. *Proteus*-Bazillen und Sporenbildner). Aus 4 von den 7 „Mäusefortproben“ gelang die Züchtung von Reinkulturen der Paratyphusgruppe, die auf Grund der serologischen Untersuchung (Agglutination) als Paratyphus B- resp. Mäusetyphusbazillen anzusprechen sind, bei den übrigen 3 Proben gelang dieser Nachweis nicht. Ebenso wenig gelang es bei 5 „Rattenfortproben“, auch bei Benutzung von Anreicherungsverfahren, wie Gallevorkultur und Ausstrich auf Malachitgrünnährböden, Bakterien vom Typus der Danysz-Bazillen herauszuzüchten. Aus 2 Rattenfortproben konnten paratyphusähnliche Bakterien gezüchtet werden, die aber durch Gärtner-(Danysz-)Serum nicht agglutiniert wurden.

Fütterungsversuche mit 4 Mäusefortproben nach der Vorschrift der Gebrauchsanweisung hatten das Ergebnis, daß in einem Falle von 4 weißen Mäusen 3, im 2. Falle von 9 weißen Mäusen im Laufe von 7—14 Tagen alle 9 der Krankheit erlagen, bei denen aus den stark vergrößerten Milzen Mäusetyphusbazillen in Reinkultur gezüchtet werden konnten.

In einem dritten an 3 Hausmäusen angestellten Versuche starben 2 Mäuse nach 2 resp. 4 Tagen; bei einer Maus konnte aus der Milz

der Mäusetyphusbazillus gezüchtet werden, die dritte ist gesund geblieben.

Mit dem „Rattenfortpräparat“ wurden 5 verschiedene Versuche an 10 in Fallen gefangenen grauen Ratten angestellt. Diese Versuche sind sämtlich negativ ausgefallen, d. h. alle Tiere sind am Leben geblieben. Auch die mit den aus 2 Rattenfortproben gezüchteten paratyphusähnlichen Bakterien gefütterten wilden Ratten blieben gesund.

Schließlich wurden noch je 2 Röhrchen des „Mäusefort“- und „Rattenfort“-Präparats untersucht, die mir Herr S. persönlich überbrachte und als Reinkulturen bezeichnete. Davon erwiesen sich die beiden Mäusefortproben als Reinkulturen von Mäusetyphusbazillen. Eine der Rattenfortkulturen ergab bei der Plattenaussaat eine Mehrheit von Kolonien der Paratyphusgruppe, die durch Gärtner-(Danysz-)Serum stark agglutiniert wurden, also als echte Danysz-Bazillen anzusprechen sind. Außerdem waren zahlreiche Kolonien eines grampositiven sporenbildenden Bazillus nachzuweisen; die andere Rattenfortkultur war eine Reinkultur von Bazillen der Paratyphusgruppe, die aber durch Gärtner-Serum nur ganz schwach agglutiniert wurde.

Verfütterung der beiden Mäusefortreinkulturen an je 4 weiße Mäuse hatten in allen 8 Fällen den Tod der Tiere im Laufe von 5–6 Tagen zur Folge. Die Verfütterung der beiden Reinkulturen des Rattenfortpräparats an 5 zahmen Ratten verlief negativ. Verfütterung der mehrfach über künstliche Nährböden fortgezüchteten Bazillen auf wilde Ratten hatte das Ergebnis, daß von 2 der mit Kultur gefütterten Ratten eine nach einem Tage, die andere nach 6 Tagen einging. Aus den Organen beider Tiere wurden Paratyphusbazillen gezüchtet, die durch Gärtner-Serum stark, durch Paratyphus B-Serum schwach agglutiniert wurden. Es muß allerdings dahingestellt bleiben, ob die erste Ratte infolge der Fütterung eingegangen ist, da der Tod in der Regel erst mehrere Tage nach der Fütterung eintritt.

Aus den angeführten Versuchsreihen ergibt sich folgendes:

1) Das Präparat „Mäusefort“ enthält als wirksamen Bestandteil Bakterien, die in die Paratyphus B-Gruppe gehören und mit den Loefflerschen Mäusetyphusbazillen identisch sein dürften.

2) Diese Bakterien waren aber nicht in Reinkultur darin vorhanden, sondern mit anderen Bakterien verunreinigt. In einigen Fällen ließen sich die Mäusetyphusbazillen nicht mehr nachweisen, dagegen bestand die Kultur aus einem Gemisch verschiedenartiger Bakterien.

3) Im Tierversuch haben sich das Präparat Mäusefort sowie auch die Reinkulturen der Mäusetyphusbazillen als wirksam für Mäuse erwiesen.

4) Das Präparat „Rattenfort“ soll als wirksamen Bestandteil den Danysz-Bazillus enthalten, der mit dem Erreger der Fleischvergiftungen, *B. enteritidis* Gärtner, sowie den sonstigen Rattenschädlingen (*Ratin-Bazillus*, *B. Issatschenko*, Dunbar, Trautmann, Liverpool-Virus) identisch ist.

Die untersuchten Proben der Präparate enthielten aber eine Mischung von mehreren verschiedenartigen Bakterien, aus der die Reinzüchtung des Danysz-Bazillus nicht gelungen ist. Von den von der Firma übergebenen Reinkulturen enthielt die eine den Danysz-Bazillus in überwiegender Anzahl, außerdem einen sporenbildenden Bazillus. Die

andere enthielt Bazillen, die den Danysz-Bazillen kulturell glichen, aber nur sehr schwach durch ein spezifisches Serum agglutiniert wurden.

5) Im Tierversuch haben sich die Handelsproben von „Rattenfort“ in ihrer unmittelbaren Anwendung als wirkungslos erwiesen.

Nach mehrfacher Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden wurden mit einer Kultur positive Ergebnisse bei wilden Ratten erzielt.

Zu II. Da, wie oben auseinandergesetzt, die Mäusetyphusbazillen von den echten Paratyphus B-Bazillen, die bei Menschen akute oder mehr typhusähnliche Darmerkrankungen hervorrufen, kulturell und serologisch nicht zu unterscheiden sind, so liegt die Vermutung nahe, daß die Mäusetyphusbazillen auch für Menschen gefährlich werden können. Dasselbe trifft zu für den Danysz-Bazillus, der weder kulturell noch serologisch von dem echten Erreger der Fleischvergiftung der Menschen, dem *B. enteritidis* Gärtner, zu unterscheiden ist. Jedoch spricht die Erfahrung dafür, daß der Mäusetyphusbazillus durch fortgesetzte Passagen durch die Maus, der Danysz-Bazillus durch fortgesetzte Passage durch die Ratte für die jeweilige Tierart eine maximale Virulenz gewonnen hat. Diese tierpathogenen Bakterien der Paratyphus- resp. Gärtner-Gruppe sind aber nicht gleichmäßig pathogen auch für den Menschen. Sie können aber unter Umständen, die wir noch nicht näher kennen, für den Menschen pathogen werden. Was den Mäusetyphus betrifft, so gehören angesichts der umfangreichen Anwendung der Mäusetyphusbazillen Erkrankungen der Menschen zu den Seltenheiten. Ich selbst habe im Jahre 1918 in Elsaß-Lothringen viele Tausend Liter Mäusetyphusbazillen im Hyg. Institut zu Straßburg hergestellt und an die Landwirte zur Mäusebekämpfung verteilt. Es ist aber trotz nicht immer ganz vorsichtigen Umgehens mit dem Kulturmaterial und, trotzdem ich genaue Erhebungen darüber anstellte, nicht ein einziger Fall von Infektion beim Menschen bekannt geworden. Schon Loeffler und andere berichten über Fälle, in denen absichtlich Mäusetyphusbazillenkulturen von Menschen verschluckt wurden, ohne daß sie erkrankten. Immerhin sind aber in der Literatur auch eine ganze Reihe von zum Teil schweren fieberhaften Darmerkrankungen beschrieben. Die ersten Fälle beobachtete Tromsdorff (München. med. Wochenschr. 1903. Nr. 48) im Jahre 1903 bei Leuten, die mit dem Auslegen der Loefflerschen Mäusetyphusbazillen zu tun gehabt hatten. Jedoch ist in diesen Fällen der kausale Zusammenhang nicht genügend geklärt.

Mayer (München. med. Wochenschr. 1905. Nr. 47) erkrankte selbst bei Laboratoriumsversuchen mit Mäusetyphusbazillen an einer ziemlich schweren Gastroenteritis mit positivem Befund von Mäusetyphusbazillen im Stuhl.

Shibayama (München. med. Wochenschr. 1907. Nr. 20) teilte mehrere einwandfreie Fälle von einzelnen und Massenerkrankungen mit. Es erkrankten einmal 30 Personen, darunter 2 tödlich, nach Genuß von Gemüse, das in einem Holzgeschirr angerichtet war, das vorher zur Aufschwemmung von Mäusetyphuskulturen gedient hatte. In einem anderen Falle waren 34 Personen, darunter eine tödlich, an heftiger Gastroenteritis nach Genuß von Fleisch eines Pferdes erkrankt, das einer Infektion mit Mäusetyphusbazillen erlegen war.

In dem Fleisch und den Ausleerungen der Erkrankten fanden sich Mäusetyphusbazillen.

Noch mehrere andere Massenerkrankungen wurden nach unvorsichtigem Umgehen mit Mäusetyphuskulturen von Shibayama beschrieben.



Fleischhanderl (München. med. Wochenschr. 1907. Nr. 20) beobachtete mehrere Fälle von akuter Enteritis bei Leuten, welche mit Mäusetyphuskulturen getränkte Brotstückchen auf dem Felde verteilt hatten und 24 Std. später teils schwer, teils leicht erkrankt waren. Unter den Erkrankten befand sich eine Lehrersfamilie, die nichts mit dem Legen des Mäusegiftes zu tun gehabt hatte, die aber einen Tag vor dem Ausbruch ihrer Erkrankung ungekochte, aus jenem Hause stammende Milch genossen hatte, in dem kurz zuvor der Mäusegifttrank bereitet worden war. Ein Sohn, der von der Milch nicht getrunken hatte, war gesund geblieben. Aus dem Stuhl der schwerkranken Lehrersfrau wurden Mäusetyphusbazillen gezüchtet. Um über die Frage, ob die Mäusetyphusbazillen die ausschließliche Ursache der beobachteten Erkrankungen bildeten, volle Klarheit zu gewinnen, trank Fleischhanderl selbst eine Aufschwemmung von Bazillen, die damals in dortiger Gegend verwendet wurden und erkrankte 24 Std. später an einer akuten, schnell vorübergehenden Enteritis mit positivem Befund von Mäusetyphusbazillen in seinem Stuhl. Eine ähnliche Beobachtung machte Beck bei einem Selbstversuch.

Auch Babes und Busila berichten über eine Gruppenerkrankung von 7 Personen zweier verschiedener Familien, welche 2–3 Tage nach dem Legen von Mäusetyphuskulturen an fieberhaftem Magendarmkatarrh erkrankten. Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Mäusetyphusbazillen nicht ganz harmlos und ungefährlich sind, und daß sie bei unvorsichtigem Umgehen vielleicht bei besonders disponierten Menschen zu Gesundheitsschädigungen Veranlassung geben können.

Dasselbe gilt auch für die Rattenschädlinge.

Auch hier sind besonders durch unvorsichtiges Umgehen mit diesen Präparaten Infektionen von Menschen herbeigeführt worden, die die Erkrankung dieser Personen an akuten, bisweilen mit typhusähnlichen Erscheinungen verbundenen Darmstörungen, in einigen Fällen sogar mit tödlichem Ausgang zur Folge hatten.

In einem Jahresbericht des Instituts für Infektionskrankheiten wird von Gaffky die Erkrankung eines mit Herstellung des Danysz-Virus beschäftigten Fabrikangestellten erwähnt.

Von Handson, Williams und Klein wird über Massenerkrankungen an Gastroenteritis berichtet, die auf eine Infektion mit Liverpool-Virus, dessen Erreger mit dem Danysz-Virus identisch ist, zurückzuführen ist. Auch muß mit der Möglichkeit einer Infektion des Fleisches unserer Haustiere sowie anderer für den menschlichen Genuß dienenden Nahrungsmittel durch Bakterien der Paratyphusgruppe (Mäusetyphus, Danysz-Bazillen) gerechnet werden.

Schon im Jahre 1905 sind im Reichsgesundheitsamt zur Verhütung von Gesundheitsschädigungen durch Beschäftigung mit Mäusetyphusbazillen Verhaltensmaßregeln zusammengestellt worden, die nach dem Erlaß des Herrn Ministers der geistlichen etc. Angelegenheiten und für Landwirtschaft vom 4. April 1905 (Minist.-Bl. f. Med.-Angel. S. 197) von den Firmen, welche sich mit der Herstellung solcher Kulturen befassen, in jedem Falle neben der Gebrauchsanweisung gedruckt oder sonstwie vervielfältigt zu verabfolgen sind.

Diese Verhaltensmaßregeln sind im Reichsgesundheitsamt im Jahre 1917 neu gefaßt und auch auf die bakterienhaltigen Rattenvertilgungsmittel ausgedehnt worden (Erlaß des preuß. Minist. f.

Landwirtschaft usw. und des Innern, betr. Verhaltensmaßregeln zur Verhütung von Gesundheitsschädigungen durch bakterienhaltige Mäuse- und Rattenvertilgungsmittel vom 4. Juni 1917, Minist.-Bl. f. Med.-Angel. S. 227), nachdem inzwischen auch durch Rattenvertilgungspräparate verschiedene (selbst tödliche) Erkrankungen hervorgerufen worden waren. Diese hatten dem preuß. Herrn Minister des Innern Anlaß gegeben, sogar vor der Benutzung dieser Präparate dringend zu warnen (Minist.-Bl. f. Med.-Angel. 1917. S. 70).

Auch in der im Reichsgesundheitsamt bearbeiteten Schrift „Die Rattenvertilgung“ II. Ausgabe. Berlin 1918 (Verl. Jul. Springer) ist auf S. 15/16 darauf hingewiesen, daß diese Präparate, die unter den Namen Ratin, Virus Danysz, Liverpool-Virus, „Rattentritt“, Rattenbazillus Terror und ähnlichen Bezeichnungen — wozu nach obigen Feststellungen auch „Rattenfort“ zu rechnen ist — in den Handel gebracht werden, nicht ganz ungefährlich sind, und es sind anschließend folgende Verhaltensmaßregeln zum Abdruck gebracht:

- 1) Die Bakterien der bakterienhaltigen Mäuse-, Ratten- und Hamstervertilgungsmittel sind für den Menschen nicht ganz ungefährlich.
- 2) Durch Aufnahme größerer Mengen solcher Bakterien können Durchfälle und selbst schwere Erkrankungen hervorgerufen werden. Besonders gefährdet sind Kinder und Personen, welche an Darmstörungen leiden oder dazu neigen.
- 3) Deshalb sind solche Personen und Kinder unter 12 Jahren mit der Zubereitung und beim Auslegen derartiger Präparate nicht zu verwenden.
- 4) Die mit dem Zurichten der Präparate und dem Auslegen der damit beschickten Köder betrauten Personen sind davor zu warnen, während dieser Arbeit zu essen, zu rauchen oder mit den Fingern den Mund zu berühren. Namentlich sollen sie sich hüten, von den zubereiteten Ködern zu essen.
- 5) Die mit den bezeichneten Arbeiten beauftragten Personen haben sich nach beendeter Arbeit zuerst die Hände und dann das Gesicht gründlich mit warmem Wasser und Seife zu waschen.
- 6) Alle bei der Zubereitung der Bakterienpräparate und bei der Auslegung benutzten Gefäße sind nach jedesmaligem Gebrauche mit heißer Sodalösung auszuwaschen oder auszukochen.
- 7) Bei Benutzung von Kulturen, die unter Verwendung von Milch hergestellt worden sind, ist auf die Befolgung der vorstehenden Ratschläge besonders zu achten.
- 8) In Räumen, welche zur Herstellung, zur Verpackung oder zur Aufbewahrung von menschlichen Nahrungs- und Genußmitteln benutzt werden, sind solche bakterienhaltigen Präparate nicht zu verwenden.

Außerdem unterliegt das Arbeiten und der Verkehr mit derartigen Präparaten der Bekanntmachung des Reichskanzlers betr. Vorschriften über Krankheitserreger vom 21. Nov. 1917 (Reichs-Ges.-Bl. S. 1069. Veröffentl. d. Reichs-Ges.-Amts 1917. Nr. 49).

Was die Gefahr der Entstehung von Erkrankungen bei Haustieren betrifft, so ist sie als gering zu bezeichnen. Der Mäusetyphusbazillus ist nach den Experimenten und Beobachtungen in der Praxis (R. Pfeiffer, Loeffler, Uhlenhuth) für die meisten Haustiere relativ unschädlich.

Krickendt beobachtete auf einem Gute, auf welchem der Rest einer zur Mäusevertilgung gebrauchten Aufschwemmung von Mäusetyphusbazillen in das Futter für Kälber gemischt war, daß eine Anzahl 4—7 Monate alter Tiere an einer Magendarminfektion erkrankte, der die jungen erlagen, während die älteren genasen.

Auch die gelegentliche Pathogenität der Rattenschädlinge für Hammel, Kälber, Pferde, Hunde, Hühner ist von einigen Autoren experimentell festgestellt. Wenn in der Praxis über solche Infektionen der Haustiere meines Wissens nichts bekannt geworden ist, so muß

doch mit einem gelegentlichen Vorkommen solcher Fälle gerechnet werden. Aber auch sie können bei einiger Vorsicht wohl leicht vermieden werden. Nach den in der Praxis gemachten Erfahrungen hat man bei allen diesen Bakterienpräparaten, die zur Mäuse- und Rattenvertilgung benutzt werden, mit einer großen Zahl von „Versagern“ zu rechnen. Es beruht das zum Teil darauf, daß die Virulenz der Kulturen starken Schwankungen unterworfen ist und besonders bei älteren Kulturen — und bei unzureichender Aufbewahrung (Sonnenlicht) — nachläßt.

Die Herstellung der Kulturen bedarf größter Sorgfalt und peinlichster Kontrolle, ja es sind häufig besondere Kunstgriffe notwendig, um die Virulenz hoch zu halten. Außerdem sind nicht alle Tiere gleichmäßig empfänglich. Unter den Ratten — besonders den älteren — gibt es eine Anzahl, die eine Immunität gegenüber den Rattenschädlingen aufweisen, welche sie, wie man annimmt, durch natürliche Aufnahme der in der Außenwelt weit verbreiteten Vertreter der Gärtner-Gruppe erworben haben. Mit der Anwendung von Bakterienkulturen wird daher in der Praxis meist die Anwendung von Giften (Meerzwiebeln etc.) kombiniert, um auch diejenigen Ratten zu vernichten, die sich gegenüber den Bakterien als unempfindlich erwiesen haben. Aber auch bei nachgewiesener Virulenz der Kulturen und Empfänglichkeit der Tiere werden bei der bakteriellen Bekämpfung der Feldmäuseplage im großen sehr häufig Mißerfolge beobachtet, indem die auch bei günstiger Witterung ausgelegten Kulturen nicht die Eigenschaft besitzen, auf dem Felde eine tödliche Seuche unter den Mäusen zu erzeugen. Derartige Beobachtungen habe ich in Elsaß-Lothringen häufig gemacht<sup>1)</sup>; man zieht daher neuerdings die chemische Methode (Schwefelkohlenstoff, Schwefeldioxyd) den bakteriellen Bekämpfungsmethoden vor.

Unter Berücksichtigung dieser Erfahrungen beantworte ich die Frage unter I. dahin,

daß die von mir untersuchten, von der Firma S. in den Handel gebrachten „Mäusefort“-Präparate sich im Laboratoriumsversuch als wirksame Mittel zur Vertilgung von Mäusen erwiesen haben, daß dagegen die untersuchten „Rattenfort“-Präparate sich bei Verfütterung an Ratten als unwirksam erwiesen haben.

In beiden Fällen besteht außerdem die Vermutung, daß wahrscheinlich infolge unsachgemäßer Beobachtung der bakteriologischen Technik häufig eine starke Verunreinigung der Reinkulturen mit anderen Bakterien erfolgt, wodurch sie mehr oder weniger überwuchert und in ihrer Wirksamkeit abgeschwächt werden.

Die Frage zu II. beantworte ich dahin, daß besonders bei unvorsichtigem Umgehen bei der Anwendung der beiden Bakterienpräparate Gesundheitsschädigungen bei Menschen und Haustieren nicht ausgeschlossen sind.

1) Wenn noch viel Feldfrucht auf den Aeckern steht, gehen die Mäuse häufig an den Köder nicht heran. Auch werden die Bazillen in den Ködern, wenn sie nicht gleich gefressen werden, nach tagelangem Liegen häufig avirulent (Messerschmidt). Mißerfolge sind vielleicht auf diese Momente mit zurückzuführen.

*Nachdruck verboten.*

## Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und den Pfeiler-Rehseschen Hühnertyphusbazillus.

[Aus dem Tierhygienischen Institut am ehemaligen Kaiser Wilhelms-Institut für Landwirtschaft zu Bromberg (früherer Leiter: Stadtrat Dr. W. Pfeiler).]

Von W. Pfeiler.

In ihrer ersten Arbeit über den Hühnertyphus haben Pfeiler und Rehse (1) an Hand der Literatur bereits auf die mögliche Identität des von ihnen beschriebenen Bakteriums mit den von anderen Forschern bei bestimmten Geflügelseuchen festgestellten Mikroorganismen hingewiesen.

So wurde auf Grund der von Lignières und Zabula (2) über den Erreger der Salmonellose aviaire gemachten Angaben die Identität dieser Krankheit mit dem Hühnertyphus angenommen. Auch das von Lucet (3) für die enzootische Enteritis der Hühner mitgeteilte Krankheitsbild entspricht dem beim Hühnertyphus beobachteten im wesentlichen. Ein gleiches gilt von der von Moore (4) beschriebenen infektiösen Leukämie der Hühner. Ebenso wurde die Kleinsche (5, 6, 7) Hühnerseuche als identisch mit dem Hühnertyphus angesprochen. Die durch den *Bacillus gallinarum* hervorgerufene Krankheit, die von Klein verschiedentlich in England und Irland beobachtet wurde, kam später auch in Holland zur Feststellung, wo sie in ausgedehntem Maße herrschte. Die eingehenden Untersuchungen von Van Straaten und Te Hennepe (8), die sich auf ein großes Untersuchungsmaterial stützen, taten einerseits die vollkommene Identität der von ihnen beobachteten Krankheit mit der Kleinschen Hühnerenteritis dar, andererseits erschien durch die Angaben der holländischen Autoren auch die Uebereinstimmung der Kleinschen Seuche mit dem Pfeiler-Rehseschen Hühnertyphus von neuem bestätigt. Als beweisend für die Identität konnte jedoch nur eine vergleichende Prüfung der beiden Mikroorganismen angesehen werden, wie sie durch Uebersendung von zwei als Kleinscher Hühnerseuchenbazillus bezeichneten Stämmen durch Herrn Prof. Poels-Rotterdam dem Tierhygienischen Institut ermöglicht wurde. Für die Ueberweisung sei Herrn Prof. Poels auch an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgesprochen.

Das Ergebnis dieser Prüfungen soll im folgenden mitgeteilt werden. Die Absicht, gleichzeitig auch eine Prüfung des neuerdings von Kraus (15) beschriebenen Hühnertyphusstammes vorzunehmen, ließ sich nicht verwirklichen, da die betreffenden Bakterien nach brieflicher Mitteilung in Prag nicht weitergezüchtet worden sind. Doch liegt nach der eingehenden Beschreibung, die Kraus gegeben hat, kein Zweifel vor, daß seine Bakterien mit den unserigen übereinstimmen (vgl. Pfeiler, 16).

Bezüglich der Uebereinstimmung der durch die beiden Krankheitserreger verursachten pathologisch-anatomischen Veränderungen sollen hauptsächlich die Angaben von Van Straaten und Te Hennepe kurz wiedergegeben werden.

Van Straaten und Te Hennepe heben die katarrhalischen Veränderungen der Darmschleimhaut hervor, die, was die Art und den Grad der Prozesse anlangt, bald mehr schleimigen, bald wieder mehr eiterigen Charakter tragen, bald zeigt sich wenig Exsudat. Auch Pfeiler (1, 9, 10, 11, 12, 13, 14) hat fast immer Veränderungen der Darmschleimhaut vorgefunden, die von geringgradiger Verdickung bis zu schwarzgrüner Verfärbung als Zeichen einer vorausgegangenen, blutigen Entzündung variierten.

Tabelle I.

Herkunft des Stammes	Milch- zucker- bouillon	Trauben- zucker- bouillon	Lackmus- molke	Milch	Barsie- kow-Lö- sung I	Barsie- kow-Lö- sung II	Neutral- rotagar	Hetsch- Lösung	Endo- agar
Klein- sche Hühner- seuche Stamm I Poels	Trübung, kein Gas, nach mehreren Ta- gen Klärung durch Bodensatz		Leichte Rötung, nach 3 Tagen Um- schlag in blau	Reaktion erst leicht sauer, später al- kalisch	Rötung, am 3. Ta- ge Ge- rinnung	o. V. <sup>1)</sup>	o. V.	Rötung, am 3. Ta- ge Ge- rinnung	o. V.
Klein- sche Hühner- seuche Stamm II Poels	dgl.		dgl.	dgl.	Rötung, Gerin- nung nach 14 Tagen	dgl.	dgl.	Rötung, am 2. Ta- ge Ge- rinnung	dgl.
Hühner- typhus Pfeiler- Rehse Fall 88, 1918	dgl.		dgl.	dgl.	Rötung, am 7. Ta- ge Ge- rinnung	dgl.	dgl.	Rötung, am 3. Ta- ge Ge- rinnung	dgl.

Pfeiler sah auch starke follikuläre Schwellung im Darm sowie geschwürige Veränderungen.

Leber und Milz sind nach den Angaben aller Autoren meist vergrößert. In der Leber sind unter anderem von Pfeiler stippchen- bzw. größere herdförmige Nekrosen gesehen worden.

Weiter vermerken Van Straaten und Te Hennepe das Vorhandensein von Knötchen im Muskelgewebe des Herzens und Magens. Die gleiche Beobachtung, jedoch nicht am Magen, sondern außer am Herzen noch in der Lunge und der Milz hat Pfeiler (1, 10) gemacht. Während bei seinen Untersuchungen nur die kulturelle Prüfung Hühnertyphusbakterien in den Knötchen ergab, die mikroskopische Untersuchung aber negativ verlief, sahen die holländischen Autoren in Ausstrichen aus diesen Knötchen eine große Anzahl der Bakterien.

Die geringe Anzahl der Bakterien in Blut- und sonstigen Gewebsausstrichen wird von allen Forschern übereinstimmend angegeben.

Was nun die neuerdings durchgeführten vergleichenden bakteriologischen Prüfungen anbetrifft, so sind ihre Ergebnisse in den nachstehenden Tabellen verzeichnet (Tab. I).

Tab. I gibt eine Uebersicht über das Verhalten der beiden Kleinschen Stämme sowie des Pfeiler-Rehse'schen Bazillus auf den verschiedenen differenzierenden Nährböden, wie sie im Bromberger Tierhygienischen Institut durchgehends zur Identifizierung von Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe gebräuchlich sind.

Danach zeigen alle 3 Stämme — als Repräsentant unseres Typus wurde ein 1918 in Bromberg frisch isolierter Stamm noch einmal mit-überprüft — mit geringen Abweichungen betreffs des zeitlichen Eintritts der Veränderungen der Nährböden das gleiche Verhalten, wie es von Pfeiler und Rehse in ihrer ersten Arbeit als typisch für den Hühner-

1) o. V. = ohne Veränderung.

**Kulturprüfung.**

Beweglich- keit, Färb- barkeit, Ge- stalt	Agar	Gelatine	Kartoffel	Conradi- Dri- galski- Platte	Endo- Platte	Indol, Schwefel- wasserstoff
Unbeweg- liche, gram- negative kleine Stäb- chen mit ab- gerundeten Enden	Runde, grau- gelbliche Kolonien	Stich, in Form kleiner, weißer Kolonien ge- wachsen, die sich später in den ganzen Nährboden verteilen. Keine Verflüssigung	Zarter, farb- loser Be- lag	Mittel- große, blaue Kolonien	Mittelgroße, schwach rosa gefärbte Kolonien	Kein Indol, lebhaftes Schwefel- wasserstoff- bildung
Unbeweg- liche, gram- negativ, sehr kleine, plum- pe Stäbchen mit abge- rundeten Enden	Kleine, runde, grau- gelbliche Kolonien			Kleine, blaue Kolonien	dgl.	dgl.
Unbeweg- liche, gram- negative kleine, plum- pe Stäbchen mit abge- rundeten Enden	Runde, grau- gelbliche Kolonien		Zarter, farbloser Belag	Kleine, blaue Kolonien	Kleine, schwach rosa gefärbte Ko- lonien	dgl.

typhus bezeichnet worden ist, auch von Klein und Van Straaten und Te Hennepe teilweise erwähnt wird.

Bezüglich des Wachstums auf Kartoffeln sei erwähnt, daß Klein (5) in seiner ersten Arbeit „kein Wachstum“ für Kartoffelnährböden angibt, während der Pfeiler-Rehsche Hühnertyphusbazillus auf Kartoffeln wächst; dieses abweichende Verhalten erklärte Pfeiler als möglicherweise mit der Verwendung verschiedener Kartoffelarten zusammenhängend. Diese Vermutung konnte bei den vorliegenden Nachprüfungen als richtig bestätigt werden, da Kartoffelkulturen der 3 Stämme bei Verwendung von Kartoffeln mit saurer Reaktion steril blieben; auf Kartoffeln von schwach oder stark alkalischer Reaktion zeigten alle Stämme gleichmäßiges Wachstum. — In einer späteren Arbeit gibt Klein (4) selbst ebenfalls Wachstum auf Kartoffeln an, ohne den Widerspruch gegenüber seinen ersten Angaben näher zu erklären.

In Tab. II ist das Verhalten der Bakterien gegenüber verschiedenen Kohlehydraten bzw. mehrwertigen Alkoholen zusammengestellt. Auch bei dieser Prüfung zeigt sich, daß die Kleinschen Stämme die für Hühnertyphusbakterien typische Reaktion geben. Nur der Stamm II von Poels zeigt insofern ein etwas abweichendes Verhalten, als er in Arabinose Säure bildet, während dieser Nährboden sonst nicht von den Bakterien angegriffen wird. Mehrfache Nachprüfungen führten stets zu dem gleichen Resultat. Es handelt sich hier um eine Abweichung, wie sie bisher beim Hühnertyphus noch nicht beobachtet wurde. Es sei in dieser Beziehung auf meine 1917 veröffentlichten vergleichenden Prüfungen an 14 Stämmen verwiesen (9). Bei einer jetzt erfolgten nochmaligen Nachprüfung aller im Bromberger Institut vorhandenen (16)



Tabelle II.

Stamm	Fruktose	Galaktose	Glykose	Mannose	Arabinose	Xylose	Rhamnos.	Laktose	Maltose	Saccharose	Raffinose, Iri-saccharid	Amyl. sol.	Dextrin	Inulin	Glyzerin, 3-atomiger Alkohol	Erythrit, 4-atomiger Alkohol	Adonit, 5-atomiger Alkohol	Mannit	Dulcit	Sorbit
	Mono-hexosen				Pentosen			Disaccharide				Polysaccharide						6-atomige Alkohole		
Kleinsche Hühnerseuche, Stamm I, Poels	S.	S.	S.	S.	o. V.	S.	S.	o. V.	S.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	S.	S.	o. V.
Kleinsche Hühnerseuche Stamm II, Poels	S.	S.	S.	S.	S.	S.	S.	o. V.	S.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	S.	S.	o. V.
Hühnertyphus Pfeiler-Rehse Fall 88, 1918	S.	S.	S.	S.	o. V.	S.	S.	o. V.	S.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	o. V.	S.	S.	o. V.

Stämme wurde gleichfalls von keinem derselben in Arabinose Säure gebildet. Eine Abweichung ist bei den 1917 erfolgten Versuchen gegenüber den Krausschen Feststellungen insofern beobachtet worden, als durch uns in Xylose Säurebildung ermittelt wurde, während Kraus für seinen Bazillus o. V. notiert. Für Maltose, Raffinose und Xylose ergab sich im übrigen in den eigenen Krausschen Protokollen eine Gegensätzlichkeit, indem er einmal „keine Säurebildung“, das andere Mal dagegen „blau“ verzeichnet. Hervorgehoben soll mit Rücksicht auf die Nomenklatur der Krankheit hier noch werden, daß sämtliche von uns geprüften Stämme in bezug auf das Säure- bzw. Gasbildungsvermögen in verschiedenen Zuckerarten, höherwertigen Alkoholen usw., mit Ausnahme von Dulcit und Sorbit, genau das gleiche Verhalten gezeigt haben wie Menschentyphusbazillen.

Tabelle III.  
Agglutinationsprüfung.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Kleinsche Hühnerseuche, Stamm I, Poels				Kleinsche Hühnerseuche, Stamm II, Poels				Hühnertyphus, Pfeiler-Rehse, Fall 88, 1918			
		nach				nach				nach			
		2 Std.	12 Std.	24 Std.	36 Std.	2 Std.	12 Std.	24 Std.	36 Std.	2 Std.	12 Std.	24 Std.	36 Std.
Typhus	2 000	500	500	1000	1000	500	500	1 000	1 000	500	500	500	1000
Para A	5 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B	100 000	1000	2000	4000	4000	5000	8000	10 000	10 000	1000	1000	1000	2000
Gärtner	3 200	500	500	1000	2000	500	500	1 000	2 000	500	1000	1000	2000
Ferkel-													
typhus	1 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glässer	20 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Psittakose	4 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mäuse-													
typhus	8 000	—	500	500	500	—	500	500	500	—	—	500	500
Hühner-													
typhus	2 000	1000	1000	2000	2000	1000	2000	2 000	2 000	500	1000	1000	2000

Die III. Tabelle gibt Aufschluß über die Agglutinierbarkeit der Bakterien. Danach greift das Hühnertyphusserum die Bakterien am

stärksten an; bei einer Verdünnung 1:2000, die der Titergrenze des Serums entspricht, war noch eine deutliche Agglutination sichtbar. Typhus, Para B- und Gärtner-Serum beeinflussen die Bazillen ziemlich gleich stark; die bei Verwendung des Para B-Serums erzielten Werte sind, bedingt durch den hohen Titer des Serums, entsprechend höher als die Werte der beiden anderen Sera. Mäusetyphusserum agglutinierte diesmal die Bakterien relativ wenig. Mit einem mittels eines anderen Mäusetyphusstammes gewonnenen Serum haben wir früher ein ganz anderes Ergebnis gehabt (17). Die Verschiedenheit der beiden sogenannten Mäusetyphusstämme dürfte hierfür entscheidend gewesen sein. In dieser Beziehung sei auf meine Ausführungen in anderen Arbeiten über Paratyphus (17, 18, 19) verwiesen. Viele systematische Irrtümer in der Systematik der Coli-Typhusgruppe finden in der dort angegebenen Weise ihre Erklärung! Auf das Bedeutungsvolle dieser unserer Feststellungen kann nicht oft genug hingewiesen werden (vgl. auch die Irrlehren über den sogenannten Vordagsen-Bazillus, B. Erzindjan u. a.). Auch die von den unseren in etwas abweichenden Krausschen serologischen Befunde (15) finden ihre Erklärung auf die gleiche Weise. Para A-, Ferkeltyphus-, Glässer- und Psittakosenserum greifen die Stämme überhaupt nicht an. Auch hier ist vollständige Uebereinstimmung der Kleinschen Bakterien mit den Hühnertyphusbazillen festzustellen.

Die Pathogenität der Bakterien durch vergleichende Tierversuche noch einmal zu überprüfen, erschien auf Grund der eingehenden, diesbezüglichen Angaben der verschiedenen Autoren und namentlich unserer eigenen Versuche nicht mehr nötig.

Kaninchen sind nach den übereinstimmenden Versuchen von Klein (5, 6, 7) und Pfeiler (1, 9, 10) nur schwer mit Hühnertyphus zu infizieren. Ein gleiches wurde auch von Van Straaten und Te Hennepe (8) festgestellt, die, ebenso wie Pfeiler, auch Meerschweinchen und Tauben sehr resistent fanden. Von 11 Kaninchenübertragungsversuchen (einschließlich solchen an Mäusen) fielen nach Pfeiler und Standfuss (10) nur 4 positiv, 11 dagegen negativ aus. Wilde und zahme Ratten, Hund und Katze sind unempfindlich für die Seuche. Van Straaten und Te Hennepe (8), Pfeiler (1, 9) dagegen gelingt es verhältnismäßig leicht, graue und weiße Mäuse zu infizieren (1, 8, 9, 10).

Die Pathogenität der Bakterien für Hühner ist wechselnd. Fütterungsversuche mit Reinkulturen des Erregers verlaufen nach Angaben von Klein (6) und Pfeiler (1, 10) nicht immer positiv. Der intramuskulären Infektion erlagen die Tiere meist (Pfeiler, 9); subkutane Einverleibung ruft nach übereinstimmenden Versuchen von Klein (5), Pfeiler (1, 10) und Van Straaten und Te Hennepe nicht immer eine tödliche Erkrankung der Versuchstiere hervor. Pfeiler und Standfuss (10) berichten, daß unter 18 künstlichen Uebertragungsversuchen an Hühnern 12 positiv, 6 dagegen negativ verliefen, die Infektionen gehen also nur in  $\frac{2}{3}$  der Fälle an.

Durch diese vergleichende Zusammenstellung der von den verschiedenen Forschern erhobenen Befunde, insonderheit aber durch die Prüfung der Klein-Poelsschen und meiner Stämme hinsichtlich ihrer biochemischen und agglutinatorischen Eigenschaften ist der Beweis erbracht, daß die zuerst von Klein als infektiöse Hühnerenteritis beschriebene Seuche mit dem Pfeiler-Rehscheschen „Hühnertyphus“ identisch ist.



## Literatur.

- 1) Pfeiler u. Rehse, *Bacillus typhi gallinarum alcalifaciens* und die durch ihn verursachte Hühnerseuche. (Mitt. Inst. f. Landw. Bromberg. Bd. 5. 1913. S. 306.) — 2) Lignières u. Zabula, Ueber eine neue Hühnerkrankheit. (Bull. Soc. centr. de méd. vét. 1905. p. 453.) — 3) Lucet, Sur une nouvelle éntérite diarrhéique enzootique des poules. (Rec. de méd. vét. 1895. p. 156.) — 4) Moore, Infectious leucaemia in fowls — a bacterial disease frequently mistaken for fowl-cholera. (Ann. Rep. Bur. of Anim. Industry. 1895/96. Washington 1897.) — 5) Klein, Ueber eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einen *Bacillus* — *Bacillus gallinarum*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889. S. 689.) — 6) Ders., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der infektiösen Hühnerenteritis. (Ebenda. Bd. 6. 1889. S. 257.) — 7) Ders., Ueber die Differentialdiagnose der Mikroben der englischen Schweineseuche (Swine fever) und der infektiösen Hühnerenteritis. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 18. 1895. S. 105.) — 8) Van Straaten u. Te Hennepe, De Kleinsche Kippenziekte. (Mededeel. v. de Rijksseruminricht. 1917.) — 9) Pfeiler, Zweite Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125.) — 10) Ders. u. Standfuss, Kasuistische, bakteriologische, pathologisch-anatomische sowie experimentelle Untersuchungen über Hühnertyphus. (Arch. f. wiss. Tierheilk. Bd. 45. 1919. S. 163.) — 11) Ders., Ein Fall von Hühnertyphus, zugleich Mischinfektion mit Geflügelcholera. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 24. S. 271.) — 12) Ders., Ein weiterer Fall von Hühnertyphus. (Tierärztl. Rundsch. 1920.) [Im Erscheinen.] — 13) Ders., Beitrag zur Kasuistik des Hühnertyphus. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1920.) [Im Erscheinen.] — 14) Ders., Weitere Beiträge zur Kasuistik des Hühnertyphus. Immunisierungsversuche gegen die Krankheit. Hühnertyphus, Tuberkulose und Geflügelcholera in einem Bestande. (München. Tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 23. S. 417.) — 15) Kraus, Zur Kenntnis des Hühnertyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 282.) — 16) Pfeiler, W., Einige Bemerkungen zur Hühnertyphusfrage. (Ebenda. Bd. 83. 1919. S. 370.) — 17) Ders., Durch Paratyphaceen bedingte Tierkrankheiten. (Ergebn. d. Hyg., Bakt., Immunitätsforsch. usw. von W. Weichhardt. Bd. 3. 1919.) — 18) Ders., Tierpathogene Erreger der Paratyphusgruppe. (Lehrb. d. Bakt. v. Friedberger u. Pfeiffer. Bd. 2. 1919.) — 19) Ders., Ueber Paratyphus B-Bazillenbefund bei einer Jungans, nebst allgemeinen Bemerkungen über das Vorkommen von Paratyphaceen beim Geflügel und bei Vögeln. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 29. 1919. S. 115.)

Nachdruck verboten.

## Ein Fall von natürlich erworbener, bazillärer Dysenterie beim Hunde (mit gleichzeitiger Schistosomiasis, Ankylostomiasis und Filariosis)<sup>1)</sup>.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie und dem Pathologischen Institut der Deutschen Medizinschule in Shanghai.]

Von Hermann Dold und Walter Fischer.

Die bisherigen zahlreichen Untersuchungen über das Vorkommen der bazillären Ruhr haben zu der allgemeinen Ansicht geführt, daß diese Krankheit dem Menschengeschlecht eigentümlich ist. „Die Ruhr ist eine spezifische Krankheit des Menschen“, sagt O. Lentz (1) in seiner Ab-

1) Die Arbeit ist Ende Juni 1915 fertiggestellt und von Shanghai aus nach Deutschland zur Publikation geschickt worden, aber verloren gegangen. In einer späteren Arbeit von Dold („Vier weitere Fälle etc.“, Deutsche med. Wochenschr. 1917) ist auf diese Arbeit Bezug genommen, da angenommen wurde, sie sei nach Deutschland gelangt und inzwischen publiziert worden. Nachdem ein Duplikat der Arbeit jetzt wieder in unsere Hände gelangt ist, wird die Arbeit, so wie sie 1915 abgefaßt war, der Publikation übergeben.

handlung über Dysenterie im Handbuch von Kolle-Wassermann. Daran ändert seiner Ansicht nach auch die Tatsache nichts, daß sie gelegentlich auf natürlichem Wege auf Affen übertragen werden konnte. Ravaut und Dopter (2) haben bei Affen, und zwar bei Makaken, welche zum Zwecke von Syphilisversuchen seit 2 Jahren in einer Pariser Klinik gehalten worden waren, den Ausbruch einer Dysenterieepidemie mit den typischen klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen beobachtet. Ein gleiches erlebten Bowman (3) im Bakteriologischen Laboratorium des Bureau of Science in Manila und bald darauf Bernhardt und Markoff (4) im Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin. In allen diesen Fällen handelte es sich um Laboratoriumsinfektionen, und zwar um Infektionen mit dem Flexner-Typus (bei Ravaut und Dopter und bei Bowman) bzw. mit dem Y-Typus (bei Bernhardt und Markoff). Den beiden letzteren gelang es auch noch in besonderen Versuchen, künstlich bei einem Affen (*Macacus*) durch Vorbehandlung mit Y-Kulturen das typische klinische Bild der menschlichen Dysenterie zu erzeugen.

Später hat Messerschmidt (5) im Straßburger Hygienischen Institut bei 2 von 40 untersuchten gesunden Kaninchen in den Faeces Dysenteriebazillen, und zwar ebenfalls den Y-Typus gefunden. Eines der Tiere wurde getötet. Der Darm zeigte völlig normale Verhältnisse. Ueber die Bedeutung dieser letzteren Befunde läßt sich vorderhand nicht viel sagen, da — wie O. Lentz wohl mit Recht bemerkt — erst weitere Untersuchungen darüber Klarheit schaffen müssen, ob es sich hier nur um einen zufälligen Befund, oder um ein häufigeres Vorkommen handelt, dem man dann für die Epidemiologie der Dysenterie vielleicht eine besondere Bedeutung beilegen müßte.

Bei dieser Sachlage dürfte der Fall, über den wir hier berichten möchten, Interesse beanspruchen.

Wir wurden kürzlich gebeten, einen Jagdhund, der seit einigen Tagen blutig-schleimigen Stuhl hatte, zu untersuchen. Es handelte sich um einen jungen (4 Jahre alten) männlichen deutschen Vorsteherhund. Das Tier entleerte, offenbar unter Schmerzen, mehrmals am Tage einen mit Blut und Schleim untermischten dünnbreiigen Stuhl.

Wir dachten zunächst an die hier so häufige Amöbendysenterie. Bei der direkten mikroskopischen Untersuchung der Stühle fanden sich in der Tat auch vegetative Amöbenformen, welche sich von der pathogenen nicht unterscheiden ließen, daneben Eier von *Schistosomum japonicum* und von *Ankylostomum*. Im Blut waren Mikrofilarien nachzuweisen.

In der Annahme, daß es sich um eine Amöbendysenterie handle, wurde zunächst eine bakteriologische Untersuchung des Stuhles nicht vorgenommen. Das Tier (Gewicht ca. 30 kg) erhielt 2 Emetininjektionen subkutan, und zwar je 0,03 g. Der Zustand des Hundes verschlimmerte sich aber trotz der Behandlung rasch und etwa 3 Tage nach der ersten Untersuchung des Stuhls ging das Tier ein.

Bei der sofort vorgenommenen Sektion, deren Befund weiter unten genau mitgeteilt ist, zeigte sich jedoch ein Bild, welches die Vermutung einer bazillären Dysenterie nahelegte. Diese Vermutung erwies sich auf Grund der hierauf vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung als richtig, wie sich aus dem Folgenden ergibt.

### I. Bakteriologischer Teil.

Nach der Eröffnung des Darms wurde aus dem blutig-schleimigen Inhalt (des Dün- und Dickdarms) Material für die bakteriologische Untersuchung entnommen, welches teils auf Endoagarplatten ausgestrichen, teils frisch einer direkten mikroskopischen Inspektion unterzogen wurde. Bei dieser zweiten Untersuchung des Darminhalts konnten keine Amöben mehr festgestellt werden, dagegen fanden sich in dem mit zahlreichen roten und weißen Blutkörperchen durchsetzten schleimigen Material vorwiegend unbewegliche Bazillen vom Typus der Typhus-Coli-Gruppe, sowie Eier von *Ankylostomum* und *Schistosomum japonicum* (siehe II. anatomisch-histologischer Teil).

Die Endo-Platten wiesen nach 24—28-stündiger Bebrütung sehr zahlreiche farblose oder leicht bläulich-weiße Kolonien auf. Die orientierende Agglutination mit einem polyvalenten Dysenterieserum ergab, daß diese Bakterien zur Gruppe der Dysenteriebacillen gehörten.

Nunmehr wurden diese Kolonien zwecks Gewinnung einer Reinkultur abgeimpft. Die genauere Prüfung dieser Reinkulturen hatte folgendes Ergebnis:

Morphologisch handelte es sich um unbewegliche, ziemlich kurze und plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden. Sie sind gram-negativ. Gelatine wird nicht verflüssigt; auf der Kartoffel wachsen sie mit dünnem Ueberzug. Bei der genaueren kulturellen Prüfung zeigten sie folgende biologische Merkmale (Tab. 1):

Tabelle 1.

Milch	Lackmusmolke	Trauben-zucker-bouillon	Bouillon	Lackmus-Mannit-Agar	Lackmus-Maltose-Agar	Lackmus-Saccharose-Agar
0	0 (sehr schwache Säurebildung)	keine Gas- bildung	kein Indol	0	0	0

Serologische Prüfung: Zu diesem Zwecke standen drei verschiedene agglutinierende Dysenteriesera zur Verfügung, nämlich ein Flexner-Serum mit einem Titer von 1:2000, ein Shiga-Kruse-Serum mit einem Titer von 1:3000, und ein Y-Serum mit einem Titer von 1:3000. Das agglutinatorische Verhalten (makroskopische Betrachtung) des fraglichen Stammes gegenüber diesen drei Seris war wie folgt:

Tabelle 2.

	1/250	1/500	1/750	1/1000	1/1250	1/1500	1/1750	1/2000	1/2250	1/2500	1/2750	1/3000
Y	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Flexner	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Shiga-Kruse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Sowohl aus der biologisch-kulturellen Prüfung wie aus der serologischen Untersuchung geht unzweifelhaft hervor, daß die aus dem Hund herausgezüchteten Bakterien Dysenteriebazillen sind und daß sie zum Typus Shiga-Kruse gehören, also zur Gruppe der stark giftbildenden Dysenteriebazillen.

Wie es sich mit dem Giftbildungsvermögen bei unserem Stamme verhält, ist aus der folgenden Tabelle (Tab. 3) ersichtlich.

Tabelle 3.

Versuchstier	Verimpfte Bazillenmenge	Tod (nach Stunden)
Kaninchen	1 Oese intravenös	nach 12 Std.
dgl.	$\frac{1}{10}$ Oese intravenös	" 48 "
Meerschweinchen	1 Oese intravenös	" 34 "
Maus	$\frac{1}{50}$ Oese subkutan	" 22 "

Man sieht, daß unser Stamm beträchtliches Giftbildungsvermögen besitzt und auch in dieser Hinsicht seine Zugehörigkeit zum Typus Shiga-Kruse erweist.

Zusammenfassend läßt sich demnach sagen, daß die bakteriologische Untersuchung das Vorhandensein von zahlreichen Dysenteriebazillen vom Typus Shiga-Kruse in dem Darminhalt des Hundes eindeutig bewiesen hat.

Es folge nun die genauere Beschreibung des anatomisch-histologischen Sektionsbildes, welches nicht nur die bakteriologische Diagnose der Dysenterie bestätigte, sondern außerdem noch eine Reihe sehr interessanter Nebenfunde enthüllte.

## II. Anatomisch-histologischer Teil.

### 1. Sektionsbefund (abgekürzt).

Kräftiger großer Jagdhund männlichen Geschlechts, ziemlich mager.

Bei Eröffnung der Bauchhöhle finden sich die Eingeweide in gewöhnlicher Lage. Das Bauchfell überall spiegelnd, glänzend und glatt.

Normaler Situs der Brusthöhle. Das Herz ist auffallend groß, und zwar ist es in seinem rechten Abschnitt sehr erheblich vergrößert; Herzspitze stumpf, vom rechten Ventrikel gebildet. Bei der Eröffnung findet sich der ganze rechte Vorhof und die rechte Kammer prall ausgefüllt mit langen, in Bündeln und zu ganzen Knäueln angeordneten, fadenförmigen Würmern und Cruorgerinnseln. Auch die ganze Lungenarterie ist angefüllt mit solchen Würmern, und sie lassen sich in den Aesten der Lungenarterie an manchen Stellen bis weit hinein, fast bis zur Peripherie, verfolgen. Auch in der Vena cava finden sich Knäuel solcher Würmer, einige reichen nach unten bis unter die Höhe des unteren Nierenpoles. Der rechte Ventrikel hat sehr kräftige Muskulatur, von dunkelroter Farbe; die Wanddicke ist fast gleich stark wie die des linken Ventrikels. Im übrigen bietet das Herz normale Verhältnisse. Beide Lungen durchaus lufthaltig, mit spiegelnd glatter Pleura. Nur an wenigen Stellen findet sich die Pleura etwas verdickt, von sehniger Beschaffenheit, meist in Form kleiner, etwa mohnkorngroßer Knötchen, oder kleiner grauweißer Streifen. Halsorgane ohne Besonderheiten.

Milz ziemlich groß, derb, blutreich, dunkelrot.

Die Nieren sind entsprechend groß. Da und dort sieht man im Parenchym, aber auch an der Oberfläche, kleine runde oder streifige, grauweiße, wenig gut abgegrenzte Herde und Flecken, an der Oberfläche erscheinen diese meist als rundliche, etwas eingezogene Herde. Im übrigen weder an der Niere, noch an den Ureteren, der Blase und den Genitalien irgendwelche pathologische Veränderungen.

Leber recht blutreich, im übrigen, ebenso wie das Pankreas, ohne erkennbare Veränderungen.

Magen und Speiseröhre ebenfalls ohne pathologische Veränderungen.

Duodenum mit breiigem Inhalt, dem jedoch zum größten Teil Schleim und Blut beigemischt ist. Die Wand des Duodenums ist ödematös, der Darm sieht dunkelrot aus. Die Schleimhaut erscheint samtartig, die Spitzen der Zotten sind gelblichgrün gefärbt, sehen etwas matt und trüb aus; die tieferen Teile der Schleimhaut sind deutlich injiziert. Es finden sich einige ovale, etwa 5 mm lange, ziemlich scharf begrenzte, fast wie ausgestanzt erscheinende Geschwüre, deren Rand kaum erhaben ist, nur etwas deutlichere gallige Färbung und Trübung aufweist. Auf dem Grunde der Geschwüre sieht man etwas eitrig aussehende weiche Massen.

Im ganzen übrigen Dünndarm ist der Inhalt fast rein blutig-schleimig; ganz wenig gallig gefärbte breiige Massen sind beigemischt. Die Schleimhaut erscheint in ganzer Ausdehnung des Dünndarms teils sehr stark, teils weniger stark injiziert; die Farbe ist bald rosenrot, bald dunkler. Die obersten Teile der Schleimhaut sind fast durchweg ganz gleichmäßig trüb, schmutzig-gallig gelbbraun gefärbt; an manchen Stellen erscheint eine Art von kleienförmigem Belag, jedoch nur ganz an der Oberfläche. Eigentliche Geschwürsbildung ist nirgends zu erblicken. Die ganze Darmwand erscheint sehr sukkulent und dadurch etwas verdickt; an der Serosa ist nur geringe Injektion an manchen Stellen nachzuweisen. Im oberen Jejunum finden sich, in der Mucosa festhaftend, etwa ein Dutzend Ankylostomen.

Der Dickdarm ist überall auffallend stark kontrahiert; sein Inhalt besteht fast nur aus blutig-schleimigen Massen, vielfach fast reinem Blute. Die ganze Wand des Dickdarms erscheint allenthalben wesentlich verdickt, zum Teil auch ödematös. Die Schleimhaut ist auf der Höhe der Falten vielfach trübe, blutig oder gallig gefärbt; an manchen Stellen finden sich seichte Geschwüre ohne scharf abgrenzbaren Rand, an anderen Stellen erscheint die Mucosa mehr hämorrhagisch; eigentliche Beläge der Schleimhaut finden sich nicht. In der Serosa treten die stark gefüllten Gefäße, meist als deutlich vorgewölbte Stränge, auffallend hervor, ein besonderer Inhalt, abgesehen von Blut und Gerinnseln, ist mit bloßem Auge nicht zu erkennen.

Die mesenterialen Lymphknoten etwas vergrößert, weich, graurot; am Mesenterium keine bemerkenswerten Befunde. In den Mesenterialvenen und in den Pfortaderästen, soweit sie eröffnet werden, ist kein abnormer Inhalt nachzuweisen.

## 2. Mikroskopischer Befund.

Dünndarm: die Oberfläche der Zotten fast geradlinig nekrotisch, Kerne nicht mehr färbbar; an der Oberfläche vielfach Detritus mit Kerntrümmern, Fibrin, einigen Leukozyten und sehr zahlreichen Bakterien. In den nekrotischen Zotten erkennt man fast überall die Konturen der Zottengefäße eben noch; die Gefäße sind fast ausschließlich angefüllt mit einzelnen oder auch in ganzen Büscheln angeordneten Mikrofilarien, deren Kerne gut färbbar sind, mit spitzem, gescheidetem Schwanzende. In der Tiefe der Zotten ist das Gewebe noch erhalten, die Epithelzellen weisen jedoch vielfach Kernveränderungen auf. Im Stroma finden sich in großer Anzahl Lymphozyten, aber auch neutrophile Leukozyten, und nur spärlich eosinophile Zellen. In den Drüsenlumina ziemlich reichlich Leukozyten, auch gequollene Zellen. Die Submucosa ist ödematös; die Blutgefäße meist weit, in manchen Randstellung der Leukozyten; dagegen im submukösen Gewebe selbst außerhalb der Gefäße fast nirgends Infiltrate. In vielen Zotten auch Hämorrhagien des Zottenstromas. Es zeigt sich,

daß an der geschwürig zerfallenen Stelle im Grund des Geschwüres ein submuköser Lymphknoten liegt, in diesem ist deutlicher Sinuskatarrh zu erkennen, auch kleine Hämorrhagien. In der Umgebung finden sich im Gewebe auch kleine leukozytäre und lymphozytäre Infiltrate, und in den benachbarten Epithelien stärkere Abstoßung von Epithelien, auch zahlreichere Leukozyten in den Drüsenschläuchen, und sehr zahlreiche Bakterien. Auch sind ziemlich große, blasse phagozytäre Zellen da und dort vorhanden.

Im Dickdarm ist auffallend die diffuse Verdickung der gesamten Wand. Starke Veränderungen finden sich zumal in der Submucosa, immer herdweise. Hier sind nämlich in großen Mengen Eier von *Schistosomum japonicum* zu finden, meist verkalkte. Solche sind meist von einem Wall von Lymphocyten und Plasmazellen, bisweilen auch von einem eigentlichen Bindegewebswall umgeben, an anderen Stellen findet man auch zahlreiche Fremdkörperriesenzellen um diese Eier. Vielfach findet man nun, daß da, wo in der Submucosa größere Haufen dieser Eier liegen, auch die Muscularis mucosae durchbrochen ist, und in dieser und in der Mucosa selbst, meist reihenweise angeordnet, meist verkalkte Eier liegen, oft frei, bisweilen aber auch von Lymphocyten oder Leukozyten umgeben. In Umgebung der Eier in der Mucosa auch vielfach Hämorrhagien. Die ganze Mucosa weist überall entzündliche, meist lymphozytäre, oder Plasmazell-Infiltrate auf. Die oberflächlichsten Schichten erweisen sich meist als nekrotisch, doch ist die Nekrose viel oberflächlicher als im Dünndarm. In der Submucosa fast allenthalben nicht unerheblich bindegewebige Verdickung, ferner an mehr ödematösen Stellen oft recht reichlich blasige, mit schmutzig-graugrünem Pigment angefüllte Zellen; auch manche Bindegewebszellen enthalten solches Pigment. Die Muscularis und Serosa weisen, außer Verdickung der Wand, keine wesentlichen Veränderungen auf, insbesondere fehlen hier entzündliche Prozesse. Die Gefäße meist weit, in vielen kleinen, aber auch in mittleren Arterien, finden sich, oft haufenweise, Mikrofilarien.

In den Mesenteriallymphknoten typischer Sinuskatarrh. Ferner sehr viel Makrophagen, die mit Hämosiderin beladen sind.

In der Milz kleine Blutungen im Parenchym und allgemeine Stauung. Ziemlich reichlich Hämosiderin.

Die Leber weist mikroskopisch die Zeichen mäßiger Stauung auf. In allen Gefäßen der Leber, von großen Pfortaderästen bis zu kleinen Kapillaren, und in Lebervenen mehr oder weniger reichlich Mikrofilarien. Das periportale Bindegewebe nicht vermehrt; hier in mäßiger Menge Hämosiderin abgelagert. An einigen Stellen im periportal Gewebe finden sich Fremdkörpertuberkel um verkalkte Schistosomeneier herum, und geringe Menge eosinophiler Zellen in der Umgebung dieser Eier.

Ueberall in den Gefäßen der Lunge große Mengen von Mikrofilarien. Das Gewebe der Lunge sonst ohne wesentlichen Befund. Die verdickten Stellen der Pleura bestehen aus derbem kernarmen Bindegewebe, das um einzeln liegende, verkalkte Schistosomeneier herum entwickelt ist.

In einem größeren Gerinnsel der Lungenarterie findet sich mikroskopisch ein Plättchenthrombus, in dem sich sehr zahlreiche Mikrofilarien finden; an den Thrombus schließt sich ein Cruorgerinnsel an.

In der Niere finden sich strichförmige Infiltrate mit Rund- und Plasmazellen; in ihrer Umgebung degenerative und atrophische Prozesse des Parenchyms. Die Kapselräume sind vielfach erweitert und enthalten

etwas Exsudat; Zylinderbildung wird in vielen Kanälchen angetroffen. In manchen geraden Harnkanälchen längliche verkalkte Gebilde. In den Gefäßen der Niere spärlich Mikrofilarien.

3. Diagnose. Nach diesen Befunden ist die Diagnose dahin zusammenzufassen: Diffuse akute pseudomembranöse Entzündung des gesamten Dünne- und Dickdarms, mit Bildung weniger oberflächlicher Geschwüre (Dysenterie). Ankylostomiasis. Bilharziose des Dickdarms (Infektion mit *Schistosomum japonicum*). Bildung von Fremdkörpertuberkeln um Bilharzia-Eier in der Dickdarmwand, in der Leber und der Pleura. Filariose (*Dirofilaria immitis*). Hochgradige Herzhypertrophie, besonders rechts. Nephritis.

#### 4. Besprechung der Befunde.

a) Wie die mikroskopische Untersuchung lehrte, besteht eine ziemlich schwere Infektion des Dickdarms mit *Schistosomum japonicum*. Diese Infektion ist hier in Shanghai bei Hunden recht häufig und verursacht oft schwere dysenterieartige Erscheinungen. In unserem Falle sind die Veränderungen durch die Infektion derart, daß sicher ganz erhebliche Beschwerden dadurch entstanden sind. Man denke nur an die massenhafte Ablagerung von Eiern in der Submucosa und Mucosa, die starke Darmwandhypertrophie. Die Infektion besteht schon länger, wie die oft völlige bindegewebige Abkapselung der Eier an den verschiedenen Stellen beweist. Doch ist die Infektion nicht derart, daß sie für den Tod des Tieres verantwortlich gemacht werden könnte.

b) Die im Dünndarm festgestellte Infektion mit Ankylostomen ist wesentlich geringfügiger als die eben genannte Infektion und spielt für den Krankheitsverlauf sicher keine Rolle.

c) Einiges wäre zu sagen über die Filarieninfektion. Es handelt sich um die hier in Shanghai, besonders auch bei Jagdhunden, so außerordentlich häufige Infektion mit *Dirofilaria immitis*. Aber eine derartig hochgradige Infektion wie in diesem Falle sieht man doch auch hier selten. Gleichgültig ist eine derartige Infektion keineswegs, das erhellt ja schon aus der hochgradigen Hypertrophie des rechten Herzens. Auch die Ueberschwemmung des Blutes mit Mikrofilarien ist ungewöhnlich heftig. Schon in vivo war im Blut die große Anzahl der Mikrofilarien aufgefallen und die mikroskopische Untersuchung der verschiedenen Körperorgane bestätigt das. Vor allem sind nicht bloß die ganze Lunge, wie gewöhnlich, sondern auch andere Organe in den Gefäßen, großen wie kleinen, Arterien wie Venen, ganz mit den Mikrofilarien überschwemmt. Am auffälligsten ist das der Fall im Darm, wo sie in den Zottengefäßen in ungemeiner Menge sich vorfinden, oft in ganzen Bündeln von 4—6 Exemplaren. Sie sind in den Zottengefäßen da besonders gut zu erkennen, wo das Gewebe schon ganz nekrotisch ist; die gut gefärbten Mikrofilarien heben sich da viel schärfer ab als im lebenden Gewebe, wo man sie, bei dem Kernreichtum der übrigen Gewebe, viel leichter übersehen kann. Manchmal ist die Anhäufung der Mikrofilarien so groß, daß man versucht ist, diese Gefäßverstopfung mit der Zottennekrose in Verbindung zu bringen. Das wird aber doch nicht angängig sein. Denn die Nekrose im Darm ist 1) zu einem gewissen Teil lediglich vorgetäuscht durch kadaveröse Prozesse; 2) ist sie ganz sicher, und zwar zu einem erheblichen Teil, auch durch die dysenterischen entzündlichen Prozesse hervorgebracht. Denn es sind ja allenthalben

die untrüglichen Zeichen einer schweren Entzündung (durch Dysenteriebazillen hervorgerufen) festzustellen. Die kleinen Follikelgeschwüre, die Blutungen im Stroma, endlich der blutig-schleimige Inhalt des Dünndarms, zeigen das ja auch aufs deutlichste an. Es wäre möglich, daß die hochgradige Verstopfung der Zottengefäße durch die Mikrofilarien eine agonale Erscheinung wäre — darüber fehlt mir die Erfahrung, es wird aber an dem hiesigen Material nachgeprüft werden — ebenso die Frage, ob eine solche Zottenverstopfung — so sieht es wenigstens aus, wie eine eigentliche „Verstopfung“ — imstande ist, allein für sich irgendwelche Darmaffektion hervorzurufen. Man wird so viel wohl zugeben können, daß dadurch wenigstens Zirkulationsstörungen entstehen können, und für eine nachfolgende oder schon bestehende Infektion ist das dann sicher nicht gleichgültig. Daß dann vielleicht doch bisweilen so viele Mikrofilarien im Blut eine Bildung von kleinen Thromben veranlassen oder doch begünstigen können, ist ebenfalls nicht von der Hand zu weisen, und der Befund, der in einem kleinen Thrombus der Lungenarterie erhoben werden konnte, darf vielleicht auch in diesem Sinne verwertet werden.

d) Die im ganzen Dünndarm bestehenden Veränderungen, und ebenso zum großen Teil die Prozesse im Dickdarm, soweit sie rein entzündlicher Natur sind, sind als die Folge einer bakteriellen Infektion aufzufassen, und zwar stimmen sie ganz mit den Veränderungen überein, die wir bei akuter bazillärer Dysenterie beobachten. Sehr hochgradig sind die histologisch nachweisbaren Entzündungsprozesse nicht, ebenso, wie ja auch makroskopisch der dysenterische Prozeß zwar typisch ist, jedoch noch nicht zu allzu starken Zerstörungen geführt hat. Doch kann bei Abwägung der einzelnen erhobenen Befunde gar kein Zweifel sein, daß dieser dysenterische Prozeß, diese Infektion also, als die Hauptkrankheit im vorliegenden Falle aufzufassen ist, und daß sie den Tod herbeigeführt hat. Bei den doch immerhin erheblichen anderweitigen krankhaften Prozessen, vor allem der schweren Infektion mit Filarien, und der Bilharzia-Infektion des Darmes, bedurfte es vermutlich einer gar nicht allzu heftigen akuten Infektion, um den Tod des Tieres herbeizuführen.

e) Zu erwähnen ist noch, daß bei der Untersuchung der Faeces, 3 Tage vor dem Tod des Tieres, in dem blutig-schleimigen Stuhl auch vegetative Amöben in ziemlich erheblicher Menge angetroffen worden waren. Die Amöben unterschieden sich bei der frischen Untersuchung in keiner Hinsicht von den Dysenterieamöben (*Entamoeba histolytica*). Bei der Sektion des Tieres wurden jedoch in den Faeces keine Amöben mehr, auch keine Cysten gefunden; ebensowenig histologisch irgendwo in der Darmwand, auch waren keinerlei makroskopische Veränderungen der Darmwand auf eine Amoebiasis verdächtig. Eine Amöbeninfektion als das Bestimmende des Krankheitsbildes ist sicher auszuschließen. Es läßt sich jetzt leider nicht mehr entscheiden, ob die von mir beobachteten Amöben tatsächlich Dysenterieamöben waren, oder ob es sich um eine harmlose Spezies gehandelt hat.

Fassen wir alles zusammen, so kommen wir sowohl auf Grund der bakteriologischen wie der pathologisch-anatomischen Untersuchung zu dem Schlusse, daß die bazilläre Dysenterie die Hauptkrankheit und die Ursache des Todes war. Die zuerst vermutete Amöbendysenterie hat sich bei der genauen post mortem-Untersuchung nicht bestätigt; die früher beobachteten Amöben, deren pathogene Natur nicht er-



wiesen ist, scheinen nur vorübergehend ausgeschieden worden zu sein. Dagegen waren im Darm die typischen makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen der bazillären Dysenterie vorhanden und damit der bakteriologische Befund auch anatomisch bestätigt. Bedenkt man, daß das Tier gleichzeitig und offenbar schon seit längerer Zeit mit Filariosis, Schistosomiasis und Ankylostomiasis behaftet war, und daß es sich bei der Dysenterie um eine Infektion mit dem stark giftbildenden Shiga-Kruse-Typus gehandelt hat, so versteht man den raschen letalen Verlauf der Krankheit, wodurch auch das Fehlen hochgradiger, ausgedehnter Gewebszerstörungen erklärt ist.

Der hier mitgeteilte Fall scheint uns aus zwei Gründen eine besondere Beachtung zu verdienen. Erstens, weil es sich hier — im Gegensatz zu den bisher bekannten Laboratoriumsinfektionen — um eine unter natürlichen Lebensverhältnissen erfolgte Ansteckung handelt, und zweitens, weil die Infektion ein Tier betrifft, welches — im Gegensatz zu Affen und Kaninchen — allgemein in nahem und intmem Verkehr mit Menschen steht.

Was den ersten Punkt (natürliche Infektion) betrifft, so liegt die Vermutung am nächsten, daß der Jagdhund „in Ausübung seines Berufes“ sich die Ansteckung geholt hat. Diese Hunde werden nämlich hier in Shanghai hauptsächlich zur Jagd auf das in den Flußniederungen des Whangpoo- und Jang-tse-Flusses reichlich vorhandene Wild (besonders Geflügel) verwendet. Das Gelände besteht aus Aeckern, Gemüse- und Reisfeldern, und diese Felder, besonders die Gemüsiefelder, sind immer reichlich mit menschlichen Fäkalien gedüngt. Beim Durchspüren solcher Felder ist nun den Hunden viel Gelegenheit zur Infektion mit pathogenen Fäkalbakterien menschlichen Ursprungs gegeben. In der Tat sollen blutig-schleimige Stühle bei Hunden und besonders bei Jagdhunden hier keine Seltenheit sein.

Epidemiologisch ist das Vorkommen von echter bazillärer Dysenterie beim Hunde natürlich von viel größerer Bedeutung als bei Affen. Auch das Vorkommen von Dysenteriebazillen in den Faeces gesunder Kaninchen würde, selbst wenn es sich hierbei um eine häufige Erscheinung handelte, verglichen mit der Hundedysenterie, epidemiologisch wenig in Frage kommen. Denn der Verkehr des Menschen mit Kaninchen und Affen ist ein sehr beschränkter. Der Hund dagegen als „beliebtes Haustier“, als „treuer Freund und Begleiter“ des Menschen, könnte wie überhaupt bei der Verbreitung von infektiösen Krankheiten, so auch bei der Verschleppung der Dysenterie eine sehr große Rolle spielen. Nachdem durch diesen Fall das Vorkommen von bazillärer Dysenterie beim Hunde erwiesen ist, müssen weitere Untersuchungen und Beobachtungen uns über die Frage der Häufigkeit der Hundedysenterie, des etwaigen Bazillenträgers und der Beziehung der Hundedysenterie zur menschlichen Aufschluß geben.

#### Literatur.

- 1) Lentz, O., Dysenterie. Handbuch von Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 968.
- 2) Ravaut et Dopter, Bull. de la soc. de path. exot. T. 2. 1909. No. 1.
- 3) Bowman, Philippine. Journal of science. 1910. Nov.
- 4) Bernhardt u. Markoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. H. 13.
- 5) Messerschmidt, Deutsche med. Wochenschr. 1912. No. 39.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Vorkommen der Malariaparasiten des Menschen bei den afrikanischen Menschenaffen.

Von Eduard Reichenow.

Mit 1 Tafel und 3 Textfiguren.

Während meines Aufenthaltes in Kamerun hatte ich Gelegenheit, Beobachtungen über das Vorkommen von Darm- und Blutparasiten bei je 8 Schimpansen und 8 Gorillas anzustellen. Bei diesen, im Gebiete des oberen Njong teils von mir erlegten, teils lebend in meinen Besitz gelangten Menschenaffen handelt es sich um junge und erwachsene Tiere, wie dies im einzelnen aus der Tabelle auf S. 209 hervorgeht. Die in der Tabelle gemachten Altersangaben über die jungen Tiere sind ziemlich genau zutreffend, da sie auf von mir vorgenommenen Wachstumsbeobachtungen beruhen, die ich an anderer Stelle zu veröffentlichen gedenke.

Eine kurze Zusammenstellung der von mir erhobenen Parasitenbefunde habe ich bereits früher (1917) gegeben. Von Darmparasiten wurde *Ancylostomum* mehrfach beim Gorilla durch den Nachweis der Eier im Kote festgestellt, und bei einem zahmen Schimpansen wurde *Ascaris lumbricoides* beobachtet. Ferner wurden bei Gorilla und Schimpanse 2 verschiedene Infusorienarten als regelmäßige Gäste gefunden. Im Blute der Menschenaffen trat mit großer Regelmäßigkeit eine Filarie auf, deren große Aehnlichkeit mit der *Microfilaria perstans* des Menschen schon früheren Beobachtern aufgefallen war. Durch einen genauen morphologischen Vergleich konnte ich den Nachweis erbringen, daß es sich tatsächlich um die Larven von *Acanthocheilonema perstans* handelt. Fast ebenso regelmäßig fand ich im Blute eine Trypanosomenart, die schon früher von Ziemann beobachtet worden war, und die ich als eine Subspecies von *T. lewisi* unter dem Namen *Trypanosoma lewisi primum* beschrieb. Schließlich wies ich in der erwähnten Arbeit das Vorkommen des menschlichen Tropicaparasiten bei den Menschenaffen nach und fügte hinzu, daß höchstwahrscheinlich auch der Tertiana- und der Quartanaparasit bei diesen Tieren auftraten.

Meine Beobachtungen über die Infusorien, denen als stets vorhandenen Kommensalen zweifellos eine verdauungsphysiologische Rolle zukommt, habe ich inzwischen (1920) ausführlich dargestellt. Eine eingehende Beschreibung der Trypanosomen werde ich später geben. In den folgenden Zeilen will ich meine Beobachtungen über die Malariaparasiten der Menschenaffen mitteilen.

Bei den Versuchen, die für die praktische Malariabekämpfung wichtige Frage zu entscheiden, ob der Mensch den einzigen Wirt für die bei ihm schmarotzenden Malariaparasiten darstellt, mußte sich das Augenmerk naturgemäß in erster Linie auf die menschenähnlichen Affen richten. In diesem Sinne unternahm Robert Koch (1900) in Batavia Versuche, die Malariaparasiten des Menschen auf Orangs und Gibbons zu übertragen, und kam hierbei, wie bekannt, zu einem negativen Ergebnis. Inzwischen sind die beim Orang vorkommenden Parasiten von Halber-

staedter und Prowazek (1907) unter dem Namen *Plasmodium pitheci* eingehend beschrieben worden und haben sich nach dem Urteil der genannten Forscher als morphologisch verschieden von den beim Menschen auftretenden Arten erwiesen. So mußte sich die Ueberzeugung befestigen, daß die Malariaerreger ausschließlich im Blute des Menschen zu finden sind.

Bei den afrikanischen Menschenaffen ist bisher nur ein Plasmodienbefund bekannt geworden, den Ziemann bei einem Schimpansen erhob. Diesen Schimpansenparasiten hielt Lühe (1906) für das *Plasmodium kochi*, eine bei den niederen Affen Afrikas verbreitete Art, während Manson ihn zu dem *P. pitheci* des Orang stellte. Nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse haben wir keinen Grund zu der Annahme, daß die gleichen Malariaparasitenarten sowohl bei Menschenaffen wie bei den niederen Affen vorkommen können. Das *Plasmodium pitheci* konnten Halberstaedter und Prowazek wohl auf andere Orangs, nicht aber auf Makaken übertragen, und ebenso wenig gelang es ihnen, mit dem bei *Macacus*-Arten vorkommenden *P. inui* Orangs zu infizieren. Die letztere Parasitenart haben Leger und Builliez (1913) auch auf afrikanische Affenarten der Gattung *Cercopithecus* und sogar auf einen Pavian übertragen, dagegen mißlang der Versuch bei 2 Schimpansen.

Andererseits ist der Nachweis für die Empfänglichkeit des Schimpansen für menschliche Malariaparasiten inzwischen durch das Experiment erbracht worden. Kurz nach der Veröffentlichung meiner Arbeit, in der ich das Vorkommen des Tropicaparasiten bei Gorilla und Schimpanse nachwies und das Vorkommen auch des Tertiana- und Quartanaparasiten als sehr wahrscheinlich erklärte, erschien eine Mitteilung von Mesnil und Roubaud (1917), daß ihnen die Ueberimpfung des Tertianaparasiten auf einen Schimpansen geglückt sei. Es ist sehr erfreulich, daß sich diese experimentelle Bestätigung meiner Befunde gerade auf den Tertianaparasiten bezieht; denn bei dieser Art ist der Nachweis der Identität auf morphologischem Wege viel weniger überzeugend zu führen als beim Tropicaparasiten.

Damit wir von den unter natürlichen Verhältnissen bestehenden Uebertragungsmöglichkeiten der Blutparasiten zwischen Mensch und Menschenaffe die richtige Vorstellung gewinnen, muß ich vorausschicken, daß Gorilla und Schimpanse in von Eingeborenen stark bewohnten Gebieten mit dem Menschen häufig in nahe Berührung kommen. Ausführliche Angaben hierüber habe ich in einer Arbeit über die Biologie der Menschenaffen (1920) gemacht. Man darf sich nicht vorstellen, daß diese Tiere lediglich im tiefsten, unbewohnten Urwalde leben. Die Art ihrer Ernährung veranlaßt sie, mit Vorliebe den sogenannten Sekundärwald, d. h. denjenigen Waldbestand, der auf altem Farmgelände nachwächst, aufzusuchen. Sie kommen ferner oft in die Pflanzungen der Neger, kreuzen ihre Wege und schlagen nicht selten in unmittelbarer Nachbarschaft der Dörfer ihr Nachtlager auf. Wenn also die Menschenaffen für die menschlichen Malariaparasiten überhaupt empfänglich sind, so müssen wir auch damit rechnen, diese Parasiten, die wir im Blute des Negers nur selten vermissen, auch beim Gorilla und Schimpansen mit einer gewissen Regelmäßigkeit zu finden.

Für die richtige Beurteilung des parasitären Blutbildes ist es von Wichtigkeit, die Größe der Erythrozyten bei den Menschenaffen zu kennen. Bei der Diagnose der menschlichen Malariaparasiten spielt das

No	Bezeichnung des untersuchten Affen	Bemerkung	Malaria Parasiten	Andere Blutparasiten
1	Erwachsener männlicher Schimpanse	Nur Ausstriche, keine dicken Tropfen untersucht	—	Larven von <i>Acanthocheilonema perstans</i>
2	Erwachsener männlicher Schimpanse	Blutuntersuchung nach dem Tode	Sehr spärliche Halbmonde im dicken Tropfen	Ziemlich zahlreiche Trypanosomen und perstans-Larven
3	Erwachsener männlicher Schimpanse	Blutuntersuchung nach dem Tode	Sehr spärliche Halbmonde im dicken Tropfen	Spärliche Trypanosomen, mäßig zahlreiche perstans-Larven
4	Erwachsener männlicher Schimpanse	Blutuntersuchung nach dem Tode	Sehr spärliche Gametozyten (Tertiana?) im dicken Tropfen	Spärliche Trypanosomen, mäßig zahlreiche perstans-Larven
5	Etwa 5-jähr. weiblicher Schimpanse	Blutuntersuchung nach dem Tode	Spärl. Halbmonde. Ziemlich zahlreiche Tertianaringe. Im Ausstrich eine Tertiana-Schizogonie	Mäßig zahlreiche Trypanosomen, spärliche perstans-Larven
6	3—4-jähr. männlicher Schimpanse	Vom lebenden Tier im Laufe eines Jahres mehrfach Blut untersucht	Alle Stadien von Tropica und Tertiana. Quartana (?)	Spärliche Trypanosomen und perstans-Larven
7	Weibl. Schimpanse, bei Beginn d. Unters. etwa 6 Wochen alt	dgl.	Alle Stadien von Tropica und Tertiana, Quartana (?)	—
8	Anderthalbjähriger weibl. Schimpanse	Einmal während des Lebens untersucht	—	Spärliche perstans-Larven
9	Halberwachsener männlicher Gorilla	Blutpräparate konnten erst 15 Std. nach dem Tode hergestellt werden. Blut stark zersetzt	—	Spärliche perstans-Larven
10	Erwachsener männlicher Gorilla	Blutuntersuchung nach dem Tode	Spärliche Gametozyten (Tertiana?) im dicken Tropfen	Mäßig zahlreiche perstans-Larven
11	Erwachsener weiblicher Gorilla	Blutuntersuchung nach dem Tode	Spärliche Gametozyten (Tertiana?) im dicken Tropfen	Ziemlich zahlreiche Trypanosomen und perstans-Larven
12	Erwachsener weiblicher Gorilla	Blutuntersuchung nach dem Tode	Spärliche Halbmonde	Ziemlich zahlreiche Trypanosomen und perstans-Larven
13	Zweieinhalbjähriger männlicher Gorilla	Blutpräparate konnten erst etwa 10 Std. nach dem Tode hergestellt werden	—	Mäßig zahlreiche perstans-Larven
14	Etwa 9 Mon. alter männlicher Gorilla	Blutpräparate konnten erst etwa 10 Std. nach dem Tode hergestellt werden. Blut stark zersetzt	—	—
15	13—14 Mon. alter männlicher Gorilla	Einmalige Blutuntersuchung während des Lebens	—	Spärliche Trypanosomen, mäßig zahlreiche perstans-Larven
16	Männl. Gorilla, bei Beginn der Untersuch. 8—14 Tage alt	Im Laufe von 3 Vierteljahren mehrfach untersucht.	—	—

Verhältnis der Parasitengröße zu der der Blutkörperchen eine Rolle. Gleiche Bilder wie beim Menschen können wir bei den Menschenaffen nur dann antreffen, wenn bei ihnen die Erythrozytengröße die gleiche ist wie beim Menschen. Dies trifft auch im wesentlichen zu. In dünnen Ausstrichpräparaten habe ich als Durchmesser der Schimpansenblutkörperchen 7—8  $\mu$ , der Menschen- und Gorillablutkörperchen 8—9  $\mu$  gemessen.

Bei den erwachsenen Menschenaffen habe ich die Malariaparasiten durchweg so spärlich gefunden, daß sie sich nur in Präparaten, die nach der Methode des „dicken Tropfens“ hergestellt waren, nicht, aber in Ausstrichen, nachweisen ließen. Abgesehen von den sehr bezeichnenden Tropicahalbmonden, sind die Parasiten im dicken Tropfen für eine vergleichend-morphologische Betrachtung nicht geeignet. Infektionen, die stark genug waren, um die Parasiten auch in Ausstrichpräparaten untersuchen zu können, haben mir die jungen Schimpansen Nr. 5—7 geliefert. Von diesen zeigten die längere Zeit in der Gefangenschaft gehaltenen Tiere Nr. 6 und 7 den größten Parasitenreichtum, während bei einem vierten jungen Schimpansen (Nr. 8), der kurz nach dem Einfangen untersucht wurde, eigentümlicherweise überhaupt keine Malariaparasiten festgestellt wurden. Wenn wir uns auf den Standpunkt stellen, daß die Malariaparasiten der Menschenaffen mit denen des Menschen identisch sind, so kann die Tatsache, daß sich die in der Gefangenschaft lebenden Tiere als am stärksten infiziert erwiesen, nicht überraschen. Bei dem ständigen Aufenthalt in dem Schlafkrankenlager Ajoshöhe, in dem Hunderte von Eingeborenen zusammen lebten, war für die Affen die Aussicht, von einer infizierten Mücke gestochen zu werden, sehr viel größer, als unter natürlichen Verhältnissen. In der Freiheit führen die Menschenaffen ein Wanderleben. Als Infektionsquelle kommen für sie also nur beim Uebernachten in der Nähe menschlicher Siedelungen Mücken in Betracht, die in den Dörfern die Malariaparasiten von Menschen aufgenommen haben, oder aber an anderen Uebernachtungsplätzen solche Mücken, die sich an einem Mitglied der kleinen Gesellschaft infiziert haben und die Infektion auf ein anderes übertragen, wenn die Affen nach mehreren Wochen die gleiche Oertlichkeit wieder aufsuchen. Wenn, im Gegensatz zu den erwähnten zahmen Schimpansen, ein zahmer Gorilla (Nr. 16) dauernd parasitenfrei blieb, so beruht das darauf, daß dieses Tier absichtlich durch eine mückensichere Lagerstätte vor einer Infektion geschützt wurde.

Die Untersuchung hat dadurch eine Beeinträchtigung erfahren, daß infolge der langjährigen Unterbrechung durch den Krieg eine Anzahl Ausstrichpräparate, die für eine genauere Durchsicht nach meiner Heimkehr aufgehoben worden waren, verblaßt sind und es mir nicht gelungen ist, eine gute Nachfärbung zu erzielen. Ich kann daher als Abbildungen nur diejenigen Zeichnungen der Arbeit beifügen, die ich schon in Kamerun ausgeführt habe. Manche sehr bezeichnenden und überzeugenden Bilder, die ich besonders hinsichtlich des Tertianaparasiten bereits in meinen Präparaten gefunden hatte, können nicht mehr wiedergegeben werden. Die drei Parasitenarten seien nacheinander besprochen:

### 1. Der Tropicaparasit (*Laverania malariae*).

Wären den früheren Untersuchern des Blutes von Menschenaffen jene eigentümlichen Parasitenformen begegnet, die dem Malariaforscher

unter dem Namen „Halbmonde“ geläufig sind, so wäre man wohl stutzig geworden, denn als derartige Gebilde treten unter allen bekannten Malariaparasiten der Wirbeltiere nur die Gametozyten des menschlichen Tropicaparasiten auf. Mich selbst hat der überraschende Befund von Halbmonden im Blute der Anthropoiden veranlaßt, der ganzen Frage näherzutreten. Daß man diese Formen bisher nicht beschrieben hat, obgleich sie bei meinem Material in einem erheblichen Prozentsatz anzutreffen sind, ist bei der geringen Zahl der bisher überhaupt auf Blutparasiten untersuchten Exemplare von Menschenaffen damit zu erklären, daß die Halbmonde in der Regel nur in sehr spärlicher Anzahl auftreten, so daß sie in dünnen Ausstrichen, die man früher ausschließlich verwendete, überhaupt nicht zur Beobachtung kommen.

Bei den erwachsenen Menschenaffen waren die Halbmonde die einzigen Stadien von *Laverania malariae*, die im Blute festgestellt werden konnten. Unter vier erwachsenen Schimpansen ließen sie sich bei zweien nachweisen (Nr. 2 und 3). Bei Nr. 1 ist der negative Befund vielleicht nur darauf zurückzuführen, daß bei diesem Tiere nur Ausstrichpräparate zur Untersuchung kamen. Von drei erwachsenen Gorillas (Nr. 10—12) fand ich nur einen (Nr. 12) mit Halbmonden infiziert. Der etwa 10-jährige Gorilla Nr. 9 scheidet für die Malariaparasitenfrage aus, ebenso wie die jungen Tiere Nr. 13 und 14, da bei diesen Affen infolge der besonderen Umstände bei der Jagd das Blut erst untersucht werden konnte, als es schon in Zersetzung übergegangen war. Von den vier jungen Schimpansen enthielten drei (Nr. 5—7) die Tropicagametozyten im Blute; bei Nr. 6 und 7, besonders bei dem ersteren, waren sie so zahlreich, daß sie auch in Ausstrichpräparaten beobachtet und untersucht werden konnten.

Besser als eine ausführliche Beschreibung beweisen die Tafelfig. 3 bis 8 die völlige morphologische Uebereinstimmung mit den Formen, die wir als Tropicahalbmonde aus dem Menschen kennen. Die Gametozyten zeigen meist eine wurst- oder nierenförmige Gestalt, die bei den weiblichen Formen (Tafelfig. 3, 4, 6) schlanker ist als bei den männlichen (Tafelfig. 7, 8). Seltener sind sichelförmige, an beiden Enden zugespitzte Gebilde (Fig. 5). Dieser Befund entspricht durchaus dem im Blute des Menschen in Kamerun; nur habe ich beim Menschen die Sichelformen verhältnismäßig noch seltener gefunden, während sie z. B. in Italien sehr zahlreich auftreten sollen. Ziemann (1917, S. 42) hat in Kamerun Sichelformen völlig vermißt und betrachtet deren Fehlen als eins der Merkmale des von ihm als besondere Art, *Laverania perniciosa*, angesehenen westafrikanischen Tropicaparasiten.

Wie im Menschenblut liegen die Gametozyten teils frei, teils noch von dem Schatten des entfärbten Erythrozyten umgeben (Tafelfig. 7). Auch im feineren zytologischen Bau herrscht völlige Uebereinstimmung. Die männlichen Formen zeigen den stark aufgelockerten Kern, dessen Chromatinkörner fast über den ganzen Körper verstreut sind und mit Pigmentkörnern untermischt erscheinen (Tafelfig. 7, 8); bei den weiblichen Formen liegt der geballte Kern in der Mitte und wird von dem Pigment mantelartig umhüllt (Fig. 3—6). Größe und Farbe der Pigmentkörner sind gleichfalls übereinstimmend.

Um auch die Größenverhältnisse der Parasiten vergleichen zu können, habe ich eine Anzahl Halbmonde aus Schimpansenblut und aus Negerblut sowohl in dicken Tropfen wie in Ausstrichen gemessen. In dicken Tropfen, wo die Zellen naturgemäß geschrumpft sind, beträgt die größte

Länge sowohl im Menschen- wie im Schimpansenblute 8—9  $\mu$ , die Breite 2,5  $\mu$ ; im Ausstrich, wo eine Abflachung und damit eine scheinbare Vergrößerung des Parasiten erfolgt ist, sind gleichfalls übereinstimmend beim Menschen und beim Schimpansen die größten Formen 14  $\mu$  lang und 5  $\mu$  breit.

Bei den beiden jungen Schimpansen Nr. 6 und 7 konnte ich auch die Stadien der schizogonischen Vermehrung des Tropicaparasiten beobachten. Bei der Schimpansin Nr. 7 traten in den ersten Wochen, nachdem sie in meinen Besitz gelangt war, im Blute nur Ringe auf, die in ihrer geringen Größe und zarten Gestalt völlig den Tropicaringen aus menschlichem Blute glichen. Einige Monate später fand ich bei diesem Tiere auch Halbmonde. Sehr selten traten ferner im peripheren Blute Stadien der Schizogonie auf. Verhältnismäßig häufig waren diese Stadien dagegen bei dem Affen Nr. 6. Diese kleinen Schizonten (Fig. 1, 2) ergaben durch die Zusammenklumpung des gesamten schwarzbraunen Pigments an einer einzigen Stelle des Zellkörpers die für den Tropicaparasiten so außerordentlich kennzeichnenden Bilder, die wir aus dem Menschen kennen.

Das verhältnismäßig zahlreiche Auftreten von Schizogoniestadien im peripheren Blute beim Schimpansen ist sehr bemerkenswert. Bekanntlich spielt sich die Schizogonie des Tropicaparasiten in der Regel in den inneren Organen ab. Auch beim Menschen kommt gelegentlich, z. B. bei der italienischen Malaria, ein häufigerer Schizontenbefund im peripheren Blute zur Beobachtung. Nach Ziemann ist ein solcher Befund in Westafrika fast niemals anzutreffen, und er betrachtet dieses Verhalten als eine weitere Eigentümlichkeit der von ihm als *L. perniciosus* unterschiedenen Art. Wenn sich in diesem Punkte die Tropicaparasiten der Menschenaffen gerade wie die italienischen und nicht wie die der Eingeborenen verhalten, so scheint mir diese Tatsache dagegen zu sprechen, daß sich das häufigere oder seltenere Auftreten der Schizonten im peripheren Blute als Artmerkmal verwerten läßt.

Durch die obigen Angaben glaube ich, die völlige morphologische Uebereinstimmung der bei den Menschenaffen gefundenen Parasiten mit dem Tropicaparasiten des Menschen bewiesen zu haben. Im Hinblick darauf, daß *Laverania malariae* auf allen Stadien in sehr bezeichnenden Bildern auftritt und sich von allen anderen bekannten Malariaparasiten sehr deutlich unterscheidet, dürfte es somit außer Zweifel stehen, daß es sich bei Mensch und Menschenaffe tatsächlich um die gleiche Art handelt, wenn auch das Uebertragungsexperiment, das der Mediziner geneigt ist, allein als vollgültigen Beweis anzusehen, noch aussteht.

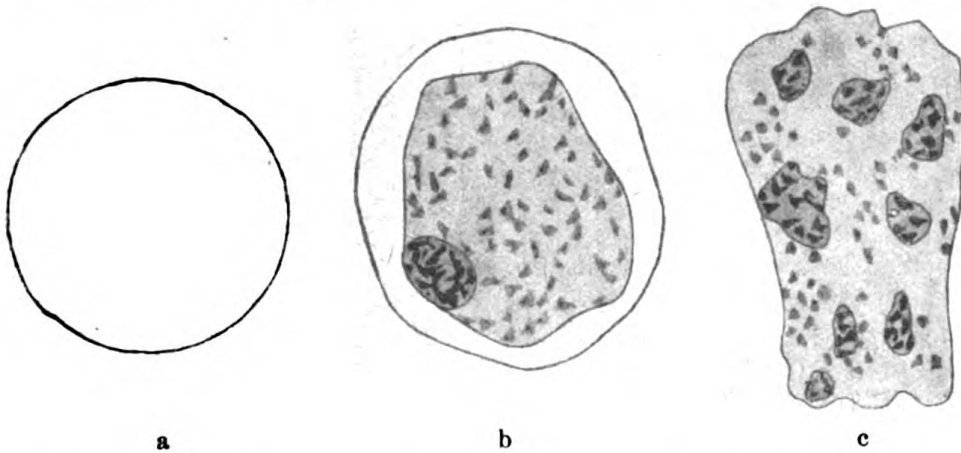
## 2. Der Tertianaparasit (*Plasmodium vivax*).

Bei einem erwachsenen Schimpansen (Nr. 4) und zwei erwachsenen Gorillas (Nr. 10 und 11) habe ich in Präparaten von dicken Tropfen runde Gametozyten mit einem runden oder länglichen am Rande liegenden Kern angetroffen, deren reichliches Pigment gleichmäßig durch den ganzen Zellkörper verteilt war. Da die Art des Präparates genauere Feststellungen über die Größe und feinere Morphologie der Parasiten nicht gestattete, konnte man diese als *Tertiana* oder *Quartana* oder auch als *Plasmodium kochi* ansprechen. Wenn ich in ihnen *Tertianagametozyten* vermute, so beruht das auf der Beobachtung, daß bei den



drei jungen Schimpansen Nr. 5—7 stärkere Infektionen mit einem Parasiten zu finden waren, der dem menschlichen Tertianaparasiten völlig gleicht. Der in Tafelfig. 9 wiedergegebene Ring und das in Tafelfig. 10 dargestellte Stadium der Schizogonie, in dem noch 12 Merozoiten mit dem als Restkörper zurückbleibenden Pigmentklumpen vereinigt sind, entstammen dem Blute von Schimpanse 5; sie könnten ebenso von einer Tertianainfektion des Menschen herrühren.

In morphologischer Hinsicht haben nun allerdings auch andere aus Affen beschriebene Plasmodien eine große Ähnlichkeit mit dem Tertianaparasiten. Eine Besonderheit des letzteren, durch die er sich z. B. von *Plasmodium kochi*, das hier in erster Linie in Frage käme, unterscheidet, besteht darin, daß die heranwachsenden Stadien eine Hypertrophie der befallenen Blutkörperchen bewirken und daß sowohl die erwachsenen Schizonten wie die erwachsenen Gametozyten einen Umfang erreichen, der den der Erythrozyten übertrifft. Beides trifft auch bei den Parasiten im Schimpansenblute zu. In den Textfiguren habe ich einige Skizzen wiedergegeben, die ich mit dem Zeichenapparat (bei Zeiss



Homog. Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 18 in der Höhe des Arbeitstisches, Vergrößerung 3700-fach) entworfen habe. Ausgeführte Zeichnungen kann ich davon nicht geben, da die Präparate inzwischen unbrauchbar geworden sind. Die Figuren stammen von einer ziemlich starken Tertianainfektion, die ich bei dem zahmen Schimpansen Nr. 7 mehrere Tage lang verfolgen konnte, nachdem sich das Tier 1 Jahr in meinem Besitz befunden hatte. Fig. b zeigt ein mit einem Makrogameten infiziertes Blutkörperchen, Fig. a ein normales Blutkörperchen, das sich im Präparat unmittelbar daneben befand. Die Hypertrophie des infizierten Erythrozyten ist deutlich erkennbar. Fig. c stellt einen freien Schizonten dar, der erheblich größer als das normale Blutkörperchen ist.

Bei dem gleichen Schimpansen konnte ich auch feststellen, daß die Entwicklungsdauer der Parasiten 48 Std. beträgt. Bei der täglichen Blutuntersuchung fanden sich immer abwechselnd Ringe und Schizogonienstadien im Blute. Dieser Tatsache kommt allerdings keine ausschlaggebende Bedeutung zu, da auch *Plasmodium kochi* eine 48-stündige Entwicklungsdauer besitzt.

Die inzwischen bekannt gewordene erfolgreiche experimentelle Uebertragung des Tertianaparasiten auf einen Schimpansen (Mesnil und Roubaud 1917) gestattet mir, mich wesentlich bestimmter über das



Vorkommen dieses Krankheitserregers des Menschen bei den Menschenaffen zu äußern, als ich es in meiner früheren Mitteilung tun konnte. Nachdem es festgestellt ist, daß der Schimpanse für den Tertianaparasiten empfänglich ist, nachdem wir gesehen haben, daß die Lebensweise der Menschenaffen häufig Gelegenheit bietet, daß die Tiere von Mücken gestochen werden, die sich am Menschen infiziert haben, und nachdem schließlich morphologisch völlig übereinstimmende Parasiten im Blute natürlich infizierter Affen gefunden worden sind, dürfte alles nur wünschenswerte Beweismaterial zusammengebracht sein, um die afrikanischen Menschenaffen auch als Wirte des Tertianaparasiten betrachten zu können.

### 3. Der Quartanaparasit (*Plasmodium malariae*).

Wenn ich annehme, daß auch der Quartanaparasit bei den Anthropoiden anzutreffen ist, so muß ich doch bei dieser Art den Befund als am wenigsten sichergestellt betrachten. Als Stütze dieser Ansicht dienen mir nur die Feststellungen bei 2 Tieren, den Schimpansen Nr. 6 und 7. Die Seltenheit des Befundes hat nichts Ueberraschendes, denn auch beim Neger ist der Quartanaparasit selten. Daß es sich gerade um die beiden längere Zeit in der Gefangenschaft lebenden Affen handelt, ließe sich damit erklären, daß bei diesen die Uebertragung vom Menschen her besonders leicht gegeben war. Es wurde jedoch auch eine Anzahl niederer Affen in der Gefangenschaft gehalten; wenn also deren Plasmodien auf den Schimpansen übertragbar sein sollten, so könnten auch sie als Infektionsquelle gedient haben.

Bei der Schimpansin Nr. 7 beobachtete ich, außer großen Ringen vom Quartanatypus, Schizonten, die sich von den Tertianaparasiten dadurch unterscheiden, daß sie das Blutkörperchen nicht vergrößerten und daß sie erwachsen höchstens die Größe eines Erythrozyten erreichten (Tafelfig. 11—14). Auch waren diese Stadien mit einem dunkleren Pigment versehen und entsprachen auch hierin dem Quartanaparasiten. Bei Schimpanse Nr. 6 beobachtete ich Gametozyten, die gleichfalls keine Hypertrophie der Wirtszelle verursachten und die die Größe eines Erythrozyten nicht überschritten. Von diesen Gametozyten habe ich einen Mikrogametozyten in Tafelfig. 15 wiedergegeben. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die bei Schimpanse Nr. 4 und bei Gorilla Nr. 10 und 11 nur im dicken Tropfen gesehenen Gametozyten nicht, wie angenommen, zu dem Tertianaparasiten, sondern zu der von mir als Quartanaparasit betrachteten Art gehören. Der auffälligste Befund war aber die nicht selten zur Beobachtung kommende Bandform der heranwachsenden Schizonten (Tafelfig. 12), die für den Quartanaparasiten so bezeichnend ist.

Ehe wir diese Parasiten als *Plasmodium malariae* ansprechen, werden wir jedoch eine Bestätigung durch die experimentelle Uebertragung abzuwarten haben.

Bei den farbigen Abbildungen, die Lühe (1906) von den durch Ziemann im Schimpansenblut entdeckten Plasmodien nach dessen Präparaten gibt, könnte es sich in Fig. 30—32 auf Taf. VIII gleichfalls um Stadien des Tertianaparasiten handeln. Fig. 29 ist vielleicht ein Tropicaring. Auch im Text gibt Lühe an: „Die jungen Ringe erinnern lebhaft an den Perniciosa-Parasiten des Menschen“.

Auf Grund meiner Ergebnisse bei den afrikanischen Anthropoiden sollte man nochmals das Augenmerk darauf richten, ob die Malaria Parasiten des Menschen nicht auch im Blute des Orang anzutreffen sind. Es ist nicht ausgeschlossen, daß Halberstaedter und Prowazek (1907) wenigstens teilweise solche Parasiten vorgelegen haben. Die Diagnose, die die genannten Forscher von ihrem Plasmodium pitheci geben, fordert geradezu zu einer Nachprüfung im obigen Sinne heraus. Sie lautet: „Die jüngsten Formen stellen Ringe dar, die den Tropicaringen gleichen; die Geschlechtsformen sind in bezug auf Pigmentierung und äußere Gestalt den Quartanparasiten ähnlich, dagegen findet die Schizogonie anscheinend nach dem Typus der Tertianparasiten statt“. Sehr auffällig ist das von Halberstaedter und Prowazek in ihrer Tafel fig. 7 dargestellte, nur einmal beobachtete Bild, da es einem Tropicahalbmond sehr ähnlich ist.

Vergleichen wir das Gesamtbild der Malariainfektionen, die ich bei Schimpanse und Gorilla beobachtet habe, mit demjenigen, das sich beim Menschen in der gleichen Gegend findet, so ergibt sich, daß der Parasitenreichtum im Affenblute im Durchschnitt geringer ist als in dem des Negers. Es ist klar, daß die Menschenaffen unter natürlichen Verhältnissen seltener der Infektion ausgesetzt sind als die Eingeborenen, da ihr ständiger Aufenthaltswechsel die Entstehung solcher Infektionsherde, wie sie sich in den Negerdörfern entwickeln, verhindert.

Stärkere Infektionen habe ich überhaupt nur bei jüngeren Affen gefunden. Bei den beiden Schimpansen Nr. 6 und 7 läßt sich der stets reichliche Parasitenbefund durch das Zusammenleben mit dem Menschen erklären; aber auch die auf der Jagd erlegte, etwa 5-jähr. Schimpansin Nr. 5 zeigte sich viel stärker infiziert als die erwachsenen Tiere. Zudem wies auch von den beiden zahmen Schimpansen der jüngere (Nr. 7) durchweg den größeren Parasitenreichtum auf. Die Infektionsstärke scheint somit, genau wie beim Eingeborenen, im Laufe der Entwicklungsjahre nachzulassen. Auch die jungen Tiere lassen keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen, selbst nicht in Fällen, in denen zweifellos eine frische Infektion vorliegt, wie ich sie seitens des Tertianparasiten bei der Schimpansin Nr. 7 beobachtete. Offenbar ist die Gewöhnung der Menschenaffen an den Malaria Parasiten eine ähnliche wie die, welche ich auch beim Neger fand: eine bereits ererbte Giftresistenz und eine während der Wachstumsjahre zunehmende Parasitenresistenz (vgl. Reichenow 1917).

Die Feststellung, daß die Malaria Parasiten des Menschen auch die afrikanischen Menschenaffen befallen, gibt eine Erklärung dafür, daß der Reisende, der in menschenleerer Gegend fern von Ansiedlungen der Eingeborenen übernachtet, eine Malariainfektion erleiden kann. Immerhin ist die Gefahr, die dem Europäer in hygienischer Beziehung von dieser Seite droht, verschwindend klein. Die Zahl der Anthropoiden im afrikanischen Urwaldgürtel ist äußerst gering im Verhältnis zu der der Eingeborenen; und solange noch fast jeder Neger eine Infektionsquelle für den Weißen bildet, wäre es töricht, etwa eine Ausrottung der Menschenaffen anzustreben, weil sie Träger von Krankheitserregern des Menschen sind.

#### Literatur.

Halberstaedter, L., u. v. Prowazek, S., Untersuchungen über Malaria Parasiten der Affen. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 26. 1907. S. 37.) — Koch, R., II. Bericht über die Tätigkeit der Malariaexpedition. (Deutsch. med. Wochenschr.

Jahrg. 26. 1900. S. 88.) — Ders., Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Malariaexpedition. (Ebenda. Jahrg. 26. 1900. S. 781 u. 801.) — Leger, M., und Bouilliez, M., Recherches expérimentales sur Plasmodium inui. (Ann. Inst. Pasteur. T. 27. 1913. p. 955.) — Lühe, M., Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. (Menses Handb. d. Tropenkrankh. 1. Aufl. Bd. 3. 1906. S. 223.) — Mesnil, F., und Roubaud, E., Sur la sensibilité du chimpanzé au paludisme humain. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 165. 1917. p. 39.) — Reichenow, E., Sobre el problema de la inmunidad de los negros contra el paludismo. (Bol. Inst. Nac. de Hig. de Alfonso XIII. Jahrg. 13. 1917.) — Ders., Parásitos de la sangre y del intestino de los monos antropomorfos africanos. (Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. T. 17. 1917. p. 312.) — Ders., Biologische Beobachtungen an Gorilla und Schimpanse. (Sitz.-Ber. Ges. Naturf. Freunde Berlin. 1920. S. 1.) — Ders., Den Wiederkäuerinfusorien verwandte Formen aus Gorilla und Schimpanse. (Arch. f. Protistenk. Bd. 41. 1920. S. 1.) — Ziemann, H., Die Malaria. (Menses Handb. d. Tropenkrankh. 2. Aufl. Bd. 5. 1917. 1. Hälfte.)

#### Tafelerklärung.

Alle Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat bei einer Vergrößerung mit Zeiss Homog. Immers. 2 mm, Komp.-Ok. 12 in Objekttischhöhe entworfen (= 1800-fach).

- Fig. 1—8. *Laverania malariae* aus dem Schimpansen.  
 „ 1 u. 2. Schizonten aus Schimpanse Nr. 6.  
 „ 3—5. Weibliche Halbmonde (Makrogameten) aus Schimpanse Nr. 6.  
 „ 6. Weiblicher Halbmond aus dem Präparat eines dicken Blutstropfens von Schimpanse Nr. 3.  
 „ 7 u. 8. Männliche Halbmonde (Mikrogametozyten) aus Schimpanse Nr. 6.  
 „ 9 u. 10. *Plasmodium vivax* aus dem Schimpansen.  
 „ 9. Tertianaring aus Schimpanse Nr. 5.  
 „ 10. Schizogonie aus Schimpanse Nr. 5.  
 „ 11—15. *Plasmodium malariae* (?) aus dem Schimpansen.  
 „ 11—14. Stadien der Schizogonie aus Schimpanse Nr. 7.  
 „ 15. Mikrogametozyt aus Schimpanse Nr. 6.

*Nachdruck verboten.*

## *Filaria nycticebi*. Eine neue *Filaria* aus dem *Nycticebus*.

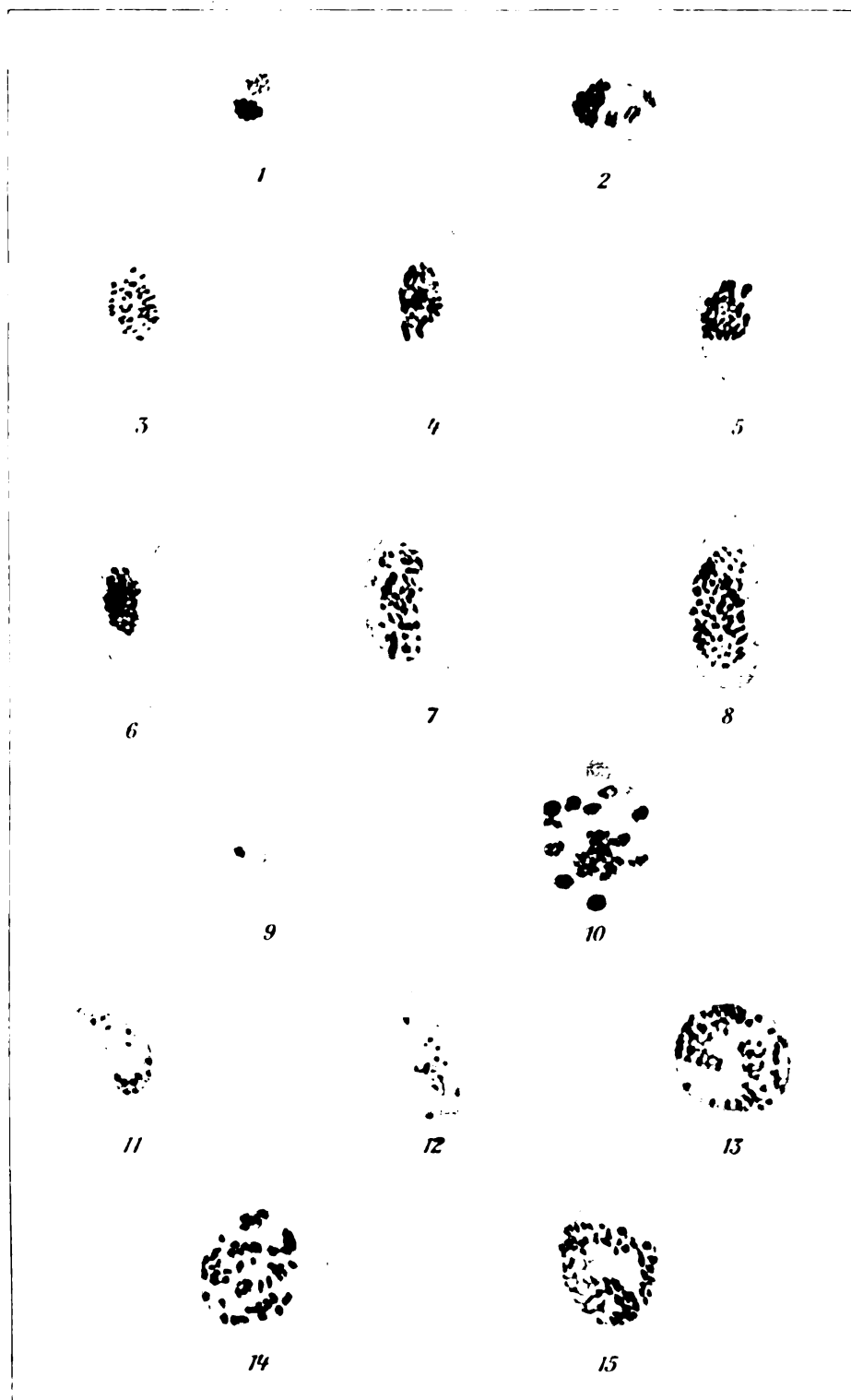
Von H. O. Mönnig.

Mit 2 Tafeln.

Die hier beschriebenen Nematoden wurden mir durch Herrn Prof. Sluiter freundlichst zur Untersuchung überlassen. Sie waren im Darm eines *Nycticebus tardigradus* aus Java gefunden, der im Tiergarten zu Amsterdam im April 1909 gestorben war.

Von den 8 gesammelten Würmern waren alle Weibchen; die männliche Form blieb mir deshalb unbekannt.

Der Körper ist weißlich und 19—22 mm lang. Die ersten 3—4 mm sind stark verjüngt mit einer durchschnittlichen Breite von 0,3 mm. Dann gewinnt der Körper alsbald einen Durchm. von 1 mm, welche Breite er bis zum hinteren Ende beibehält. Der Schwanz ist stumpf abgerundet. Die merkwürdige Bewaffnung dieser Tiere, welche aus 2 ventro-lateralen Reihen von Haken besteht, die dem ganzen Körper entlang verlaufen, ist vorn, wo die Haken am stärksten entwickelt sind, bereits mit unbewaffnetem Auge zu sehen.



Dr. Reichenow, 1912

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Dr. Reichenow, 1912



Anfangs hielt ich die bewaffnete Seite für dorsal, da alle Würmer vorn nach der unbewaffneten Seite aufgerollt oder stark gekrümmt waren, und der Mund auch nicht terminal, sondern nach der unbewaffneten Seite verschoben liegt. Da aber die Vulva und der Anus an der bewaffneten Seite ausmünden, und die eine Spitze des dreieckigen Oesophaguslumens nach derselben Seite gekehrt ist, muß diese unbedingt die Ventralseite sein, und liegt also der Mund dorsalwärts verschoben.

Die Mundöffnung ist quer-oval, ohne Lippen und klein im Verhältnis zur Mundhöhle. Der Mund ist im ganzen von 10 Papillen umgeben, wovon 8 kleinere in 2 Reihen, einer inneren und einer äußeren von je 4 Papillen, und 2 größere, welche zwischen beiden Reihen liegen, und zwar in der Verlängerung der beiden Hakenreihen (Taf. I, Fig. 2).

Die Mundhöhle ist groß und besitzt als einzige Bewaffnung 2 U-förmige Verdickungen der inneren Kutikularschicht, welche in den zwei Seiten der Mundhöhle gelegen sind, mit ihren Schenkeln nach der Oeffnung gerichtet. Letztere stoßen hier paarweise zusammen und bilden so zwei freie Spitzen, die an der Vorder- bzw. Hinterseite der Mundöffnung nur wenig hervorragen (Taf. I, Fig. 5).

Der Oesophagus ist lang und anfangs etwas verdickt, aber ohne eine Erweiterung des Lumens. Er ist in zwei scharf begrenzte Teile geschieden<sup>1)</sup>, einen vorderen, dünneren, etwa 0,4 mm langen mit dichtstehenden Muskelfibrillen, wenig Sarkoplasma und wenig oder keiner körnigen Substanz zwischen den Fibrillen, und einen hinteren weiteren, 4 mm langen, mit mehr Sarkoplasma und vielen Körnern zwischen den Fibrillen (Taf. I, Fig. 3).

Der Oesophagus liegt frei in der Leibeshöhle, mit Ausnahme von den Stellen, wo die Seiten- und Medianwülste sich an ihn anlegen. Das Lumen des dünneren Teiles hat einen 6-eckigen Querschnitt mit 3 einspringenden und 3 ausspringenden Winkeln und geht allmählich in ein gleichkantiges Dreieck im dickeren Teil über. Die Innenseite ist mit einer starken Chitinschicht bekleidet, die an der ventralen Seite des Dreiecks Wülste haben kann (Taf. II, Fig. 12). Nirgends ist die Wand so verdickt oder das Lumen so erweitert, daß man darin einen Bulbus erkennen könnte, und ebensowenig waren Zähnnchen oder Ventilapparate zu finden. Infolgedessen meine ich, annehmen zu dürfen, daß der Oesophagus nicht mit einem Bulbus versehen ist.

Die dorsale Drüse des Oesophagus ist im vorderen Teile deutlich sichtbar. Es ist mir nicht gelungen, ihre Ausmündung in die Mundhöhle oder in das Oesophaguslumen zu finden. Anfangs ist sie etwas verdickt, darauf folgt ein dünnerer Fortsatz, bis sie in den 2. Abschnitt des Oesophagus übergeht. Hier konnte ich sie wegen der starken Entwicklung der körnigen Masse nicht weiter verfolgen. Zuweilen schien es mir möglich, daß diese Masse einen Teil der Drüse ausmacht, da die Beschaffenheit der Körner vorn im dicken Teil des Oesophagus viel gröber und heller färbbar ist als weiter nach hinten. Die körnige Masse liegt aber nicht nur dorsal, sondern in der ganzen Oesophaguswand, und ventrale Drüsen konnte ich im dünnen Teil des Oesophagus nicht finden. Hier liegen in den 2 ventralen Dritteln der Wand nur einige Kerne zwischen den Fibrillen, welche wahrscheinlich zu diesen gehören<sup>2)</sup>

1) Vgl. Schneider, A., Monographie der Nematoden. Berlin 1866. S. 192. — Jaegerskiöld, L. A., Ueber den Oesophagus der Nematoden (Bih. kgl. Svensk Vet.-Akad. Handl. Bd. 23. 1897).

2) Looss, A., Bau des Oesophagus bei einigen Ascariden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. Or. 1. Bd. 19. 1896. S. 5; Bd. 18. 1895. Nr. 6; Bd. 21. 1897. S. 922.)

(Taf. II, Fig. 12). Im dicken Teile sind wenige von diesen Kernen zu sehen; die Muskelfibrillen stehen hier ja auch nicht so dicht. Aber in der körnigen Masse, die in kleineren oder größeren Anhäufungen zwischen den Fibrillen liegt (Taf. II, Fig. 14), sind viele kleinere Kerne zu finden.

Der scharfe Uebergang vom 1. zum 2. Teil des Oesophagus (Taf. I, Fig. 6) hängt wahrscheinlich zusammen mit dem plötzlichen Auftreten der körnigen Substanz, wie man aus der Abbildung des Ueberganges (Taf. II, Fig. 13) ersieht.

Wo der Oesophagus in den Darm übergeht, ragt er mit seinem verdünnten Ende eine kurze Strecke in denselben hinein, wodurch wahrscheinlich ein klappenartiger Verschluss gebildet wird, der die Rückstauung des Darminhaltes verhindern soll (Taf. I, Fig. 7 und Taf. II, Fig. 15), ähnlich wie die Uebergänge durch Jaegerskiöld<sup>1)</sup> und M. Braun<sup>2)</sup> beschrieben werden.

Die Darmwand besteht aus einer einzigen Schicht von Zellen, die an der Außenseite von einer starken Cuticula begrenzt ist. Die Kerne der Zellen färben sich stark und liegen basal, umgeben von vielen dunklen Körnchen; weiter ist das Protoplasma der Zellen ganz hell. An der Innenseite liegt auf den Zellen eine dünne Cuticula, und darauf eine Stäbchenschicht (Taf. II, Fig. 16). Die Stäbchen stehen nicht alle vertikal auf ihrer Unterlage, scheinen aber in Bündelchen zusammenzuhängen und mit einer Zwischensubstanz verbunden zu sein. Der Darm läuft meist ventral, durch die Geschlechtsorgane verdrängt, und setzt sich in einen kurzen Enddarm fort, der mit einigen Längsmuskeln versehen ist. Der Uebergang vom Mittel- zum Enddarm ist eng und im Leben wahrscheinlich im Ruhezustand geschlossen.

Der Anus liegt beinahe, aber nicht ganz terminal: er ist etwas ventralwärts verschoben. Gerade dahinter trägt das stumpf abgerundete Hinterende auf der äußersten Spitze eine große Papille, welche dorsal gerichtet und mit einer scharfen Spitze versehen ist (Taf. I, Fig. 4).

Die Cuticularschicht des Leibesschlauches ist dick und deutlich geringelt, aber die Linien der beiden Körperhälften gehen nicht ineinander über, um einen vollständigen Ring zu bilden, sondern enden ungleich lang zwischeneinander. Sie werden auch durch die Haken unterbrochen, da diese die Breite von mehreren Ringen einnehmen. Die Cuticularschicht besteht aus 3 Lagen, wovon die mittlere durch entsprechende Auswüchse die Haken bildet. Die innere Schicht geht unter den Haken durch und die äußere bedeckt die basalen Teile derselben, läßt aber den eigentlichen Haken frei durchtreten (Taf. II, Fig. 11). Der Bau und die Anzahl der Haken verändert sich mit ihrer Lage (Taf. I, Fig. 1). Gleich hinter der Mundöffnung fangen sie als kleine Höcker an (Taf. I, Fig. 3), die weiter nach hinten rasch größer werden; der 10. hat schon beinahe die maximale Höhe (0,16 mm) erreicht. Sie haben hier eine dreieckige Form, mit einer scharfen Spitze, die nach hinten gerichtet ist (Taf. I, Fig. 8). Die Haken stehen hier so dicht, daß sie nicht in einer geraden Linie, sondern schräg nach außen und hinten nebeneinander gestellt sind. Der hintere Rand eines jeden Hakens ragt am vorderen Rande des nächsten an seiner Außenseite vorbei.

Etwa am Ende des 1. Drittels der Leibeslänge werden die Haken bereits schmaler und schärfer zugespitzt, wobei sie auch in größeren

1) Op. cit.

2) Braun, M., u. Seifert, O. Die tierischen Parasiten des Menschen. Bd. 1. 1915. S. 285.

Abständen voneinander zu stehen kommen. Am letzten Viertel der Leibeslänge bleibt ein Zwischenraum von 0,6 mm und die Bewaffnung ist stachelartig geworden (Taf. I, Fig. 9).

Die Haken scheinen der Länge nach gestreift zu sein, was dadurch verursacht wird, daß sie eine Anzahl „Rippen“ besitzen, welche Verdickungen der Chitinmasse sind. Diese „Rippen“ setzen sich an jeder Seite des Hakens wie Wurzeln fort in die Cuticula, wodurch die Haken einen dicken Basalansatz in der Cuticula zu haben scheinen (Taf. I, Fig. 8 und Taf. II, Fig. 9, 10). Im Querschnitt zeigt der Haken einen zentralen Teil, der sich dunkler färbt als die äußere Schicht, und welcher vom einen Haken einen Fortsatz zum nächsten zu senden scheint<sup>1)</sup> (Taf. II, Fig. 11).

Die Subcuticula ist dünn und oft nicht gut sichtbar. Unter jedem Haken findet aber eine Verdickung dieser Schicht statt, was schon für die Bildung solcher Körper notwendig zu sein scheint. Jedoch sind auch hier keine begrenzten Zellen zu unterscheiden.

Die Seitenwülste sind stark entwickelt und haben einen netzartigen Bau, wo die Kerne sich anhäufen. Die dorsalen und ventralen Medianwülste sind sehr schwach entwickelt.

Die Muskelschicht besteht aus vielen großen Muskelzellen, welche mit ihrem fibrillären Teil der Subcuticula anliegen, und einem blasenförmigen, protoplasmatischen Teil, der den Kern enthält und der Leibeshöhle zugekehrt ist. Die Fibrillen bestehen aus mehreren aufeinander liegenden Schichten, welche sich dunkel färben, wie im Querschnitt deutlich hervortritt (s. Abb.). So sieht man sie in Gestalt eines Vierecks, das an seiner inneren Seite tief dreieckig ausgeschnitten ist. Zuweilen scheint die Muskelschicht an ihrer freien Seite durch ein dünnes, aufliegendes Gewebe begrenzt zu sein, so daß keine Muskelzellen frei in die Leibeshöhle hängen, aber eine mehr oder weniger glatte Grenzlinie zustande kommt (s. Abb.).

Die Exkretionsgefäße liegen in beiden Seitenwülsten als feine, intrazelluläre Kanälchen; sie verlassen die Seitenwülste und vereinigen sich kurz vor dem Nervenring. Der Exkretionsporus liegt an der ventralen Seite auf derselben Höhe.

Das Zentralorgan des Nervensystems, der Nervenring, liegt um den Oesophagus in der Höhe des 2. Hakens (Taf. II, Fig. 17). Er besteht aus mehreren ringförmigen Fasern und großen, dreieckigen Ganglienzellen, welche dorsal, ventral und lateral liegen und deren Kerne sich stark färben. Nach vorn entspringen vom ventralen Ganglion 4 Nervenstränge und von den lateralen Ganglien je 1 Lateralnerv, der anscheinend 3 Fasern enthält. Diese Nervenstränge biegen alle nach den Seitenlinien aus und laufen eine kurze Strecke dicht gegen die Subcuticula zu. Mehr nach vorn ist es mir nicht gelungen, sie weiter zu verfolgen. Vom dorsalen und vom ventralen Ganglion geht je 1 Nervenstrang nach hinten ab, von welchen der ventrale der stärkere ist. Diese beiden Stränge sind durch halbkreisförmige Kommissuren verbunden, welche in Abständen voneinander abwechselnd rechts und links entspringen.

Die Vulva mündet an der ventralen Seite eine kurze Strecke vor dem Ende des Oesophagus aus. Die Vagina ist kurz und öffnet sich bald in den Uterus, welcher erst einen kurzen, unpaaren Stamm hat, der sich dann in zwei Aesten nach hinten fortsetzt.

Die Vagina besteht aus einer inneren, homogenen Schicht und einer

1) Vgl. die Haken von *Lecanocephalus* bei O. Hamann, Die Nematelminthen. 1895.



starken Muskelschicht von Längsfasern. Das Lumen der Vagina ist anfangs rund, bekommt aber bald einen fünfeckigen Querschnitt durch Ausbuchtungen der Wand. Die Muskelschicht verschwindet, und der kurze, unpaare Stamm des Uterus sowie auch die darauffolgenden Aeste bestehen aus einer einzelligen Schicht, welche nach außen von einer Basalmembran begrenzt ist. Die Zellen bilden kleine Vorsprünge in das Lumen, und diese Höcker werden in den vorderen Teilen der Aeste so stark, daß das Lumen wieder einen fünfeckigen Querschnitt bekommt. Danach erweitert sich die Geschlechtsröhre und ist mit Eiern angefüllt.

Die beiden Aeste verlaufen in vielen Windungen bis hinten hin im Leibe und kehren dann wieder den halben Weg zurück, wo der Eierstock sich anschließt. Dieser setzt sich nach vorn fort bis zum Anfang der Aeste und kehrt dann noch eine kurze Strecke zurück.

Der Eierstock ist mit einer Membran überzogen, welche anfangs mit einer ungeteilten, vielkernigen Protoplasmamasse gefüllt ist. Bald liegt unter der Membran eine dünne Epithelschicht und in der Mitte eine Rhachis, woran die Eizellen befestigt sind. Weiter nach vorn lösen diese sich von der Rhachis; letztere wird dünn und verschwindet endlich ganz, und der Eierstock geht allmählich in den Uterus über.

Die Eier sind oval und haben eine starke, glatte Eischale. Im vorderen Teil des Uterus befinden sie sich in verschiedenen Teilungsstadien, und es sind auch bereits vollkommen entwickelte Embryonen vorhanden, die jedoch die Eischale noch nicht verlassen haben.

\* \* \*

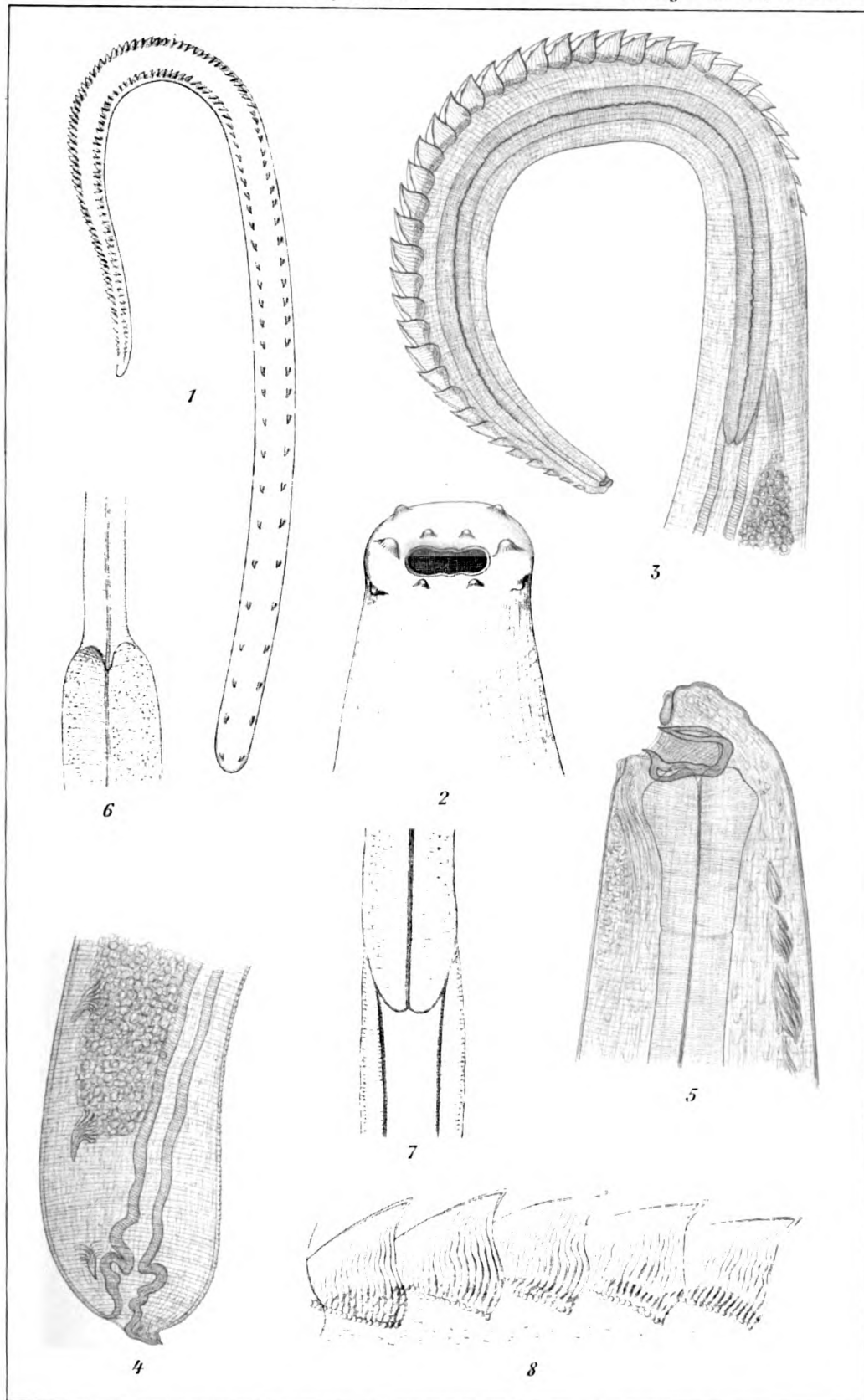
Diese Nematoden sind mit keiner mir bekannten, bereits beschriebenen Art in Uebereinstimmung zu bringen. Daß sie zu den Filarien gehören, ist zweifellos. Der Körper ist bei seiner Kürze ziemlich dick, was aber auch der Fall ist bei *F. uncinata* Rud., mit welcher dieser Wurm vieles gemein hat, ist. Die Beschaffenheit des lippenlosen Mundes mit seinen 10 Papillen, das Fehlen eines Bulbus im Oesophagus, welcher zwei so verschiedene Teile hat, die rinnenartige Gestalt der fibrillären Teile der Muskelzellen, der Bau der ♀ Geschlechtsorgane und die Tatsache, daß die Vulva weit nach vorn liegt, sind deutliche Filarieneigenschaften.

Wie bereits erwähnt, steht dieser Wurm der *F. uncinata* Rud. am nächsten. Er besitzt auch 2 Stachelreihen, aber doppelte, und die Stacheln sind viel kleiner, während die Reihen erst dorsal und dann lateral laufen. Auch hat der Mund 2 Zähne und nur 6 Papillen. Krausen sind stark entwickelt, und die Vulva liegt 1 mm von der Schwanzspitze.

Die einzelnen Haken können, was ihren Bau betrifft, gut verglichen werden mit denen der Gattung *Lecanoccephalus*<sup>1)</sup>. Wie diese, haben sie eine innere, sich dunkel färbende Masse, und die radiäre Streifung der 3 Cuticulaschichten, wie sie durch Hamann beschrieben ist, zeigt viel Ähnlichkeit mit den „Rippen“ in den Haken von *F. nycticebi*. Jedoch ist die Bewaffnung von *Lecanoccephalus* mehr stachelartig, während die vorderen Haken der *F. nycticebi* mehr die lateral abgeplattete Form von großen Rosendornen haben. In *Lecanoccephalus* überzieht die oberste Cuticularschicht den Haken, was in *F. nycticebi* nicht der Fall ist.

Was die Anordnung der Haken anbelangt, so finden wir größere Unterschiede: Die Haken des vorderen Körperabschnittes sind in beiden Arten stärker entwickelt und folgen dichter aufeinander als die des

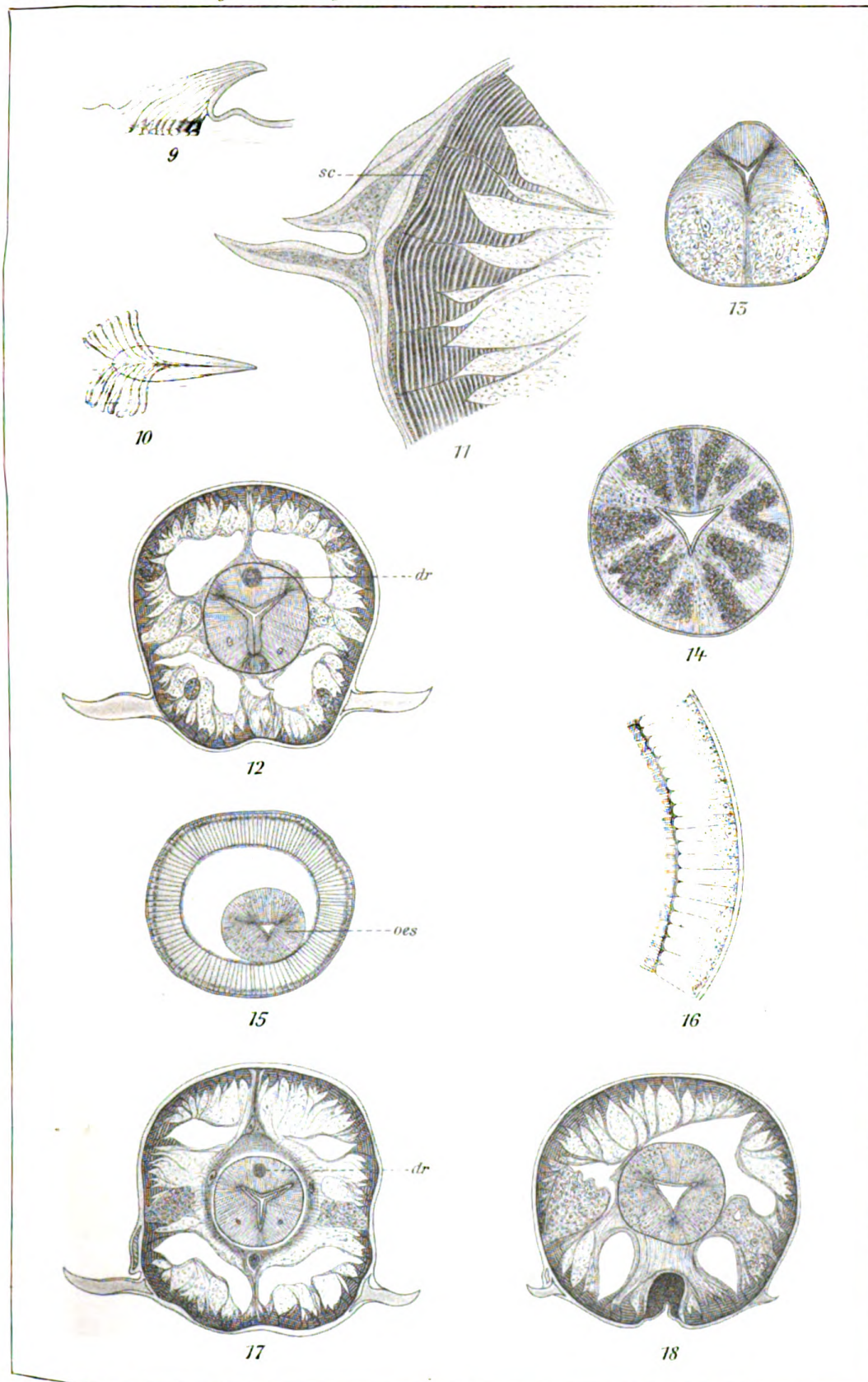
1) O. Hamann, op. cit.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

F. Mönnig, Jena





Verlag von Gustav Fischer in Jena

F. Weise, Jena.



mittleren Teiles. Weiter nach hinten werden die der *F. nycticebi* noch kleiner, während die des *Lecanoccephalus* wieder größer werden und dichter stehen. Die Stacheln des *Lecanoccephalus* sind aber nicht in Längsreihen geordnet, sondern stehen in Kränzen um den ganzen Umfang des Leibes.

Amsterdam, März 1920.

#### Tafelerklärung.

##### Tafel I.

- Fig. 1. Der ganze ♀ Wurm von der ventralen Seite.
- Fig. 2. Dorsalansicht des Kopfes.
- Fig. 3. Das vordere Ende des Wurmes — die zwei Teile des Oesophagus.
- Fig. 4. Das Hinterende des Wurmes.
- Fig. 5. Mundbewaffnung und Anfang des Oesophagus.
- Fig. 6. Uebergang vom dünnen zum dicken Teil des Oesophagus.
- Fig. 7. Uebergang vom Oesophagus zum Darm.
- Fig. 8. Vordere Haken — Seitenansicht.
- Fig. 9. Hintere Haken — Seitenansicht.

##### Tafel II.

- Fig. 10. Hinterer Haken — von oben gesehen.
- Fig. 11. Querschnitt durch die Leibeswand und zwei Haken. Kurs. sc. Subcuticula.
- Fig. 12. Querschnitt auf der Höhe des dünneren Teiles des Oesophagus. Kurs. dr. dorsale Drüse.
- Fig. 13. Querschnitt durch den Oesophagus beim Uebergang zum dickeren Teile.
- Fig. 14. Querschnitt durch den dicken Teil des Oesophagus.
- Fig. 15. Querschnitt durch den Anfang des Darmes. Kurs. oes. Oesophagus.
- Fig. 16. Darmwand im Querschnitt.
- Fig. 17. Querschnitt durch den Nervenring.
- Fig. 18. Querschnitt durch die Vulva.

*Nachdruck verboten.*

## Studien über die Konglutination und über das Schwanken des Konglutiningehaltes im Serum gesunder und kranker Rinder.

(Vorläufiger Bericht.)<sup>1)</sup>

[Aus dem Laboratorium der Tschitaer Rinderpeststation (Vorstand:  
A. A. Dudukalow).]

Von H. v. Jettmar.

Auf Grund meiner zahlreichen Untersuchungen von Seren normaler und kranker Rinder kam ich zu folgenden Ergebnissen:

1) Bei schweren Allgemeinerkrankungen des Rindes<sup>2)</sup>, gleichgültig, ob fieberhaft oder nicht, sinkt der Konglutiningehalt im Serum auf Null herab, ohne daß die übrigen Serumqualitäten verändert zu sein brauchen. (Der Gehalt an Komplement und an Hämagglutininen ist beim kranken Rinde nicht oder nur unbedeutend herabgesetzt.)

2) Geht die Krankheit in Genesung über, so treten noch vor der gänzlichen Entfieberung die Konglutinine wieder in normaler Menge im Blute auf.

<sup>1)</sup> Die Arbeit ist vom Verf. während seiner Kriegs-gefangenschaft in Sibirien hergestellt worden.

<sup>2)</sup> Meine Untersuchungen erstreckten sich hauptsächlich auf Rinderpest, dann auf Peripneumonie, Maul- und Klauenseuche, Variola, Vakzine, chronische Dysenterie.

3) Von den von mir für die Konglutinationsreaktion angewandten Alexinen (Menschen-, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Hundeserum) erweist sich das Hundeserum als das vorteilhafteste: Relative Haltbarkeit, Fehlen hämagglutinierender Eigenschaften, starke Wirkung in kleiner Dosis, geringe individuelle Schwankungen usw. machen es für die Anwendung bei der Konglutinationsreaktion am geeignetsten.

4) Das sonst zur Konglutinationsreaktion fast ausschließlich angewandte Pferdeserum hat zahlreiche Nachteile: vor allem starke hämagglutinierende Wirkung gegenüber den meisten Erythrozytenarten, bedeutende individuelle Schwankungen, sehr geringe Haltbarkeit usw.

5) Der störendste Faktor für die Konglutinationsreaktion ist nicht die Hämolyse durch das Alexin, sondern weit störender ist das Vorhandensein einer hämagglutinierenden Komponente in der Versuchsanordnung.

6) Die wesentlichsten, makroskopisch augenfälligen Unterschiede zwischen Hämagglutininen und Konglutininen sind folgende: a) Konglutination tritt bedeutend rascher ein als die Hämagglutination. b) Bei echter Konglutination adhären die Blutkörperchen stets in Form eines häutchenartigen Beschlages fest an den Wänden der Epruvette, von welchen sie sich erst nach kräftigem Schütteln in Form von Fetzen abschlagen lassen, während dieses Phänomen bei bloßer Hämagglutination nie stattfindet. Die Hämagglutination merkt man anfangs erst daran, daß in der Flüssigkeit Körnchen auftreten, welche sich, allmählich größer werdend, auf den Röhrchenboden herabsenken und sich dort in Form von Klümpchen völlig lose anlegen. c) Der durch echte Konglutination gebildete Klumpen ist gegen Schütteln bedeutend widerstandsfähiger als der durch bloße Hämagglutination gebildete.

7) Von den von mir untersuchten Erythrozytenarten (Mensch, Pferd, Kamel, Hammel, Schwein, Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Adler, Ente, Sperling, Frosch) erweisen sich als beste Indikatoren für die Konglutinationsreaktion Menschen-, Kamel-, Hammel- und Meerschweinchenerythrozyten. Die Erythrozyten der übrigen Tierarten werden entweder zu stark und leicht hämagglutiniert (Vogel-, Frosch-, Kaninchenerythrozyten), oder sind der Konglutination gegenüber sehr widerstandsfähig resp. unzugänglich (die Erythrozyten der von mir untersuchten Karnivoren).

8) Die weißen Blutelemente lassen sich nicht konglutinieren.

9) Mit Hilfe der Konglutination kann man verschiedene Blutkörperchenarten differenzieren<sup>1)</sup>. Jede Erythrozytenart weist in bezug auf das adhärierende Häutchen, das Aussehen der Flocken, Unterschiede auf.

10) Sensibilisierte Erythrozyten lassen sich leichter konglutinieren (alte, alexinierte Rinderseren, welche native Erythrozyten zu konglutinieren schon nicht mehr imstande sind, konglutinieren noch deutlich dieselben sensibilisierten Erythrozyten).

11) Stark sensibilisierte Erythrozyten anzuwenden, ist unstatthaft, da dieselben oft nicht unwesentlich hämagglutiniert werden.

12) Einmaliges Gefrieren und Wiederauftauenlassen hat keinen Einfluß auf die Umlagerung der Konglutinine, hingegen konzentriert sich dieser Serumbestandteil nach häufigem Gefrierenlassen und Wiederauftauen völlig in der untersten Flüssigkeitsschicht.

13) Röntgenstrahlen, 15 Min. lang einwirkend, lassen die Konglutinine unbeeinflusst.

1) Gleiche Versuchsbedingungen vorausgesetzt.

14) Die Konglutinine konservieren sich länger und besser, wenn das Rinderserum mit dem Blutkuchen zusammen aufbewahrt wird, als wenn man das Serum abpipettiert und allein aufbewahrt.

15) Durch tagelanges Verweilen von Rinderserum bei hoher Bruttemperatur (40° C) verliert dasselbe allmählich völlig seinen Gehalt an Konglutininen.

16) Hingegen werden die Konglutinine durch langes Aufbewahren (über 2 Monate) bei Zimmertemperatur im Dunkeln nicht völlig vernichtet.

17) Unbedeutende Eiterung vernichtet die Konglutinine nicht.

18) Der Prozeß des Inaktivierens übt einen schädigenden Einfluß auf die Konglutinine aus.

19) Als beste Kombination erwies sich bei alten, ihres Alexins verlustig gegangenen Rinderseren folgende: Rindersera in Dosen 0,1 bis 0,5 ccm alexiniert mit Hundeserum in 10-proz. Verdünnung auf 1,5 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung ergänzt, nach 1 Std. Hinzufügen sensibilisierter Hammelerythrozyten + spez. Ambozeptor (vom immunisierten Kaninchen) ana 1,0 ccm. Die Menge des Hundeserums und die Verdünnung des Ambozeptors werden durch entsprechende Vorversuche vorher bestimmt.

Abgeschlossen am 2. November 1919.

*Nachdruck verboten.*

## Ein neuer Bakteriennährboden.

[Aus dem Laboratorium der Militärkonservenfabrik Heinemann & Hanka, Berlin-Weißensee.]

Von Dr. med. vet. R. Standfuss und Dr. med. vet. E. Kallert.

Die Beschaffung der zur Herstellung der Nährböden nötigen Fleischbrühe ist mit zunehmender Fleischknappheit immer schwieriger und kostspieliger geworden. Eine weitere sehr erhebliche Verteuerung bewirkt der außerordentlich hohe Preis des Peptons. Wir haben uns deshalb bemüht, eine brauchbare und billige Bouillon, unter Verzicht auf die Verwendung von Fleisch und Pepton, herzustellen.

Als geeignetes Ausgangsmaterial erschien uns die Brühe, welche beim Ausschmelzen frischer Knochen in den Knochenspeisefettfabriken anfällt. Diese Fabriken befassen sich mit der Ausnützung der frischen Schlachttierknochen für die menschliche Ernährung. Durch Auskochen der Knochen im Autoklaven unter einem Druck von 2—4 Atmosphären wird neben dem Fett eine Brühe gewonnen, welche hauptsächlich die Stickstoffsubstanzen der Knochen enthält. Da sie sehr schnell verdirbt, muß man sie, um sie haltbar zu machen, auf die Konsistenz einer dicken Gallerte eindampfen. Die chemische Zusammensetzung dieser Brühe ist aus folgender Analyse zu ersehen:

Feuchtigkeit (bei 105° flüchtige Stoffe)	48,20 Proz.
Trockensubstanz	51,80 „
Stickstoffsubstanzen	43,70 „
Asche	9,14 „
Fett	1,— „
Kochsalz	7,89 „
Phosphorsäure	Spur
Kreatinin	0,025 „



Zur Herstellung des Nährbodens bedarf die Knochengallerte einer weiteren Bearbeitung; sie wird in heißem Wasser aufgelöst, dessen Menge sich nach dem Eindickungsgrade der Gallerte richtet, wird geklärt und filtriert, so daß sich eine hellgoldgelbe, vollkommen klare Flüssigkeit ergibt. Zur Erzielung guten Wachstums ist es zweckmäßig, der Bouillon leicht verdauliche Eiweißderivate zuzusetzen. Solche können aus der Knochengallerte selbst durch Abbau mittels Salzsäure gewonnen werden. Zu diesem Zwecke wird die Gallerte mit der gleichen Menge Wasser und der gleichen Menge Salzsäure versetzt und etwa 24 Std. im Wasserbade erhitzt. Unter der Einwirkung der Salzsäure werden die Stickstoffsubstanzen der Gallerte abgebaut, teilweise bis zur Stufe der Amino- und Amidosäuren. Dieses Abbauprodukt wird nach Neutralisation mit Soda und Filtration der geklärten und filtrierten Brühe in der Menge von 1 Proz. an Stelle von Pepton zugesetzt. Der Zusatz von Kochsalz erübrigt sich, da die Brühe einen genügend hohen natürlichen Kochsalzgehalt besitzt. Die Reaktion wird schwach alkalisch gehalten.

Zur Prüfung des neuen Nährbodens wurde sowohl die Bouillon als solche, als auch aus ihr hergestellter Agar benützt. Folgende Bakterienarten wurden durch eine Reihe von Generationen auf dem Agar und in der Bouillon fortgezüchtet: *B. typhi hominis*, *B. Voldagsen*, 2 *Suipestifer*-Stämme, *B. typhi suis* Glässer, Ferkeltyphusbakterien, *B. enteritidis* Gärtner, Bakterium der Ueberruhrer Fleischvergiftung, 2 *Ratin*-Stämme, *B. pseudo-tuberculosis rodentium*, Bakterium des seuchenhaften Abortus der Stuten, *B. dysenteriae* Shiga-Kruse, *B. coli commune*, *Micrococcus pyogenes aureus* und *albus*, *Sarcina lutea*, *Vibrio Metschnikoff*. Alle diese Stämme zeigten ein genügend kräftiges, charakteristisches Wachstum; *Micrococcus pyogenes aureus* und *Sarcina lutea* bildeten reichlich Farbstoff. Einige schwächer wachsende Stämme, z. B. *B. Voldagsen*, Glässer und Ferkeltyphus, hatten diese Eigentümlichkeit bereits in den Ausgangskulturen auf Agar aus richtiger Fleischbrühe gezeigt. Ferner sei erwähnt, daß wir den neuen Nährboden schon seit längerer Zeit zu allen täglichen bakteriologischen Arbeiten mit gutem Erfolg verwenden.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen ist der aus Knochenbrühe hergestellte Bakteriennährboden im allgemeinen ebenso brauchbar wie Bouillon aus Fleisch mit Peptonzusatz. Seine Herstellung ist nicht schwieriger als diejenige gewöhnlicher Bouillon. Er dürfte ganz besonders für die Anlegung von Massenkulturen in Betracht kommen.

### Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Dold, Hermann, u. Fischer, Walter,</b> Ein Fall von natürlich erworbener, bazillärer Dysenterie beim Hunde (mit gleichzeitiger Schistosomiasis, Ankylostomiasis und Filariosis), S. 198.</p> <p><b>v. Jettmar, H.,</b> Studien über die Konglutination und über das Schwanken des Konglutiningehaltes im Serum gesunder und kranker Rinder. (Vorläufiger Bericht.) S. 221.</p> <p><b>Meyer,</b> Zum Nachweis der Milzbrand-erreger im Fischmehl, S. 177.</p> <p><b>Mönnig, H. O.,</b> <i>Filaria nycticebi</i>. Eine neue <i>Filaria</i> aus dem <i>Nycticebus</i>. Mit 2 Tafeln, S. 216.</p> | <p><b>Pfeiler, W.,</b> Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und den Pfeiler-Reheschen Hühner-typhusbazillus, S. 193.</p> <p><b>Reichenow, Eduard,</b> Ueber das Vorkommen der Malaria Parasiten des Menschen bei den afrikanischen Menschenaffen. Mit 1 Tafel und 3 Textfiguren, S. 207.</p> <p><b>Standfuss, R., u. Kallert, E.,</b> Ein neuer Bakteriennährboden, S. 223.</p> <p><b>Uhlenhuth,</b> Gutachten über einige Handelspräparate von bakteriellen Ratten- und Mäuse-Vertilgungsmitteln, S. 186.</p> |
|---|--|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Kapsel (Gummihülle) der pathogenen Bakterien. II. Die chemische Beschaffenheit der Kapsel und ihr dadurch bedingtes Verhalten gegenüber der Fixierung und Färbung.

[Aus der Medizinischen Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Prof. E. Toennlessen, Oberarzt der Klinik.

In der ersten Mitteilung<sup>1)</sup> hatte ich die Darstellung der Bakterienkapsel beschrieben und dabei auf den Unterschied aufmerksam gemacht, der zwischen der „Kulturkapsel“ und der „tierischen Kapsel“ hinsichtlich ihrer Fixier- und Färbbarkeit besteht. In späteren Untersuchungen<sup>2)</sup>, die sich hauptsächlich mit der Variabilität der Kapselbildung befaßten, ergaben sich weitere Befunde über die Morphologie und Physiologie des Friedländerschen Pneumoniebazillus, die ich kurz erörtern möchte, soweit sie zum Verständnis des folgenden nötig sind.

Betrachtet man den Bazillus in Tusche, so erscheint das eigentliche Stäbchen deutlich dunkler als der übrige Teil; es entspricht dem sogenannten Entoplasma (Zettnow). Um das Stäbchen herum zeigt sich ein heller Saum, der sich nur im ungefärbten, nichtfixierten Präparat scharf gegen die breite Außenhülle absetzt. Dieser helle Saum ist das Ektoplasma. Es ist bei allen Bakterien (nicht nur bei den eigentlichen Kapselbildnern) vorhanden und erscheint im hitzefixierten, gefärbten Präparat als mehr oder weniger breiter, heller Hof um den dunkelgefärbten Bakterienkörper. Beim Friedländer-Bazillus wird es durch Hitzefixierung und Färbung von der stark gefärbten und geschrumpften Substanz der breiten Außenhülle verdeckt.

Diese im Tuschepräparat sehr breit erscheinende Außenhülle des Friedländer-Bazillus ist erst das charakteristische Merkmal des Kapselbakteriums. Der Ausdruck „Kapsel“ ist nicht ganz exakt, denn das, was bei den üblichen Kapseldarstellungsmethoden als „Kapsel“ das stark gefärbte Entoplasma umgibt, besteht aus dem Ektoplasma und der breiten Außenhülle zusammen; nur die letztere sollte meines Erachtens als Kapsel bezeichnet werden. Ich habe die Eiweißnatur dieser Außenhülle schon früher<sup>2)</sup> bezweifelt und deshalb diesen Teil des Bakteriums nicht als „Schleimhülle“, sondern mit dem chemisch indifferenten Namen Gallerthülle bezeichnet. Die Gallerthülle besteht, wie ich in folgendem zeigen werde, aus einem Polysaccharid der Galaktose, also einer gummiartigen Substanz, und man würde sie demnach am richtigsten „Gummihülle“ nennen. Sie wird vom Ektoplasma durch Sekretion gebildet und grenzt an der Peripherie ohne eine weitere abschließende Membran an

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 65.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 69 u. 73.

die Umgebung. Sie entsteht nicht etwa, wie einige Autoren annehmen, lediglich durch Aufquellung der Zellmembran, sondern durch Synthese. Weitere Befunde machen es wahrscheinlich, daß die Substanz der Gummihülle einen Reservennährstoff darstellt wie die Stärke bei den höheren Pflanzen oder das Glykogen im Säugetierkörper; die Gummihülle bildet sogar für andere Bakterienarten, z. B. für den *Bacillus vulgatus*, wenn er auf den Friedländer-Rasen gebracht wird, einen besseren Nährboden als der Agar selbst, soweit man dies aus der Schnelligkeit des Wachstums, mit der er sich ausbreitet, schließen kann. Der *Bacillus vulgatus* überzieht dann in kurzer Zeit als zähes, faltiges Häutchen den ganzen Friedländer-Rasen; er verbraucht dabei nur die Gummisubstanz und schädigt die Lebensfähigkeit des Friedländer-Bazillus, der, seiner Gallerthüllen beraubt, unter dem *Vulgatus*-Häutchen sich nachweisen läßt, in keiner Weise.

Beim Altwerden der Kulturen verschwindet die Gallerthülle allmählich, während das Ektoplasma erhalten bleibt, solange die Kultur lebensfähig ist. Das Ektoplasma stellt also einen lebenswichtigen Teil der Bakterienzelle dar; es ist, wenn einmal die Substanz der Außenhülle aufgebraucht ist, in keiner Weise mehr zum Quellen zu bringen. Die Gallerthülle ist dagegen nur ein Sekretionsprodukt der Bakterienzelle.

Da die Gallerthüllen bei den kapselbildenden pathogenen Bakterien in auffallendem Parallelismus zur Virulenz stehen (vgl. die Untersuchungen von Gruber und Futaki<sup>1)</sup>, Preisz<sup>2)</sup>, Eisenberg<sup>3)</sup> an Milzbrandbazillen, die des Verf.<sup>4)</sup> an Friedländers Pneumoniebazillus), war man schon längst bestrebt, die Beziehungen zwischen Gallerthülle und Virulenz aufzuklären. Eine fast unübersehbare Reihe von Arbeiten beschäftigt sich mit dieser Frage. Im auffallenden Gegensatz hierzu haben sich noch wenige Untersuchungen mit der chemischen Natur der Gallerthüllen befaßt. Hierher gehören die Mitteilungen von Fürst<sup>5)</sup> und Hamm<sup>6)</sup> über die Kapsel des Friedländer-Bazillus, die von Preisz<sup>2)</sup> über die Kapsel des Milzbrandbazillus. Preisz ging noch einen Schritt weiter, indem er die aggressive und immunisierende Wirkung seines „Anthrakomuzins“ prüfte. Durch eigene Untersuchungen bin ich zu wesentlich anderen Resultaten gekommen als die genannten Autoren. Da die Beurteilung ihrer Ergebnisse durch die Kenntnis meiner Resultate wesentlich erleichtert wird, möchte ich meine Untersuchungen zuerst beschreiben.

Die Kulturen auf Agar haben das Aussehen einer 2—3 mm dicken, glänzenden Schleimschicht; mit der Platinöse lassen sich von ihr lange Fäden abziehen. Diese fadenziehende Beschaffenheit erhält sich auch, wenn man die Bazillen in ziemlich viel Wasser aufschwemmt. Auf Grund dieser fadenziehenden Konsistenz der Kulturen vermutete ich ursprünglich, daß die Gallerthüllen aus Muzin bestehen (wie auch Heim<sup>7)</sup> früher die Kapseln wegen ihres färberischen Verhaltens als Muzin ansprach) und versuchte, zur Gewinnung dieses Muzins und zu seiner Trennung von den Nukleoproteiden die Methode zu benutzen, welche Friedr. Müller<sup>8)</sup> zur Darstellung des Sputum-Muzins ausgearbeitet hat. Allein

1) München. med. Wochenschr. 1907. S. 249.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 44 u. 58.

3) Ebenda. Bd. 45. S. 148 u. 638, Bd. 47 u. 49.

4) Ebenda. Bd. 69 u. 73.

5) Ebenda. Bd. 56.

6) Ebenda. Bd. 43.

7) München. med. Wochenschr. 1904. Nr. 10.

8) Zeitschr. f. Biol. Bd. 42.

schon im Anfang versagte diese Methode, da durch Essigsäure keine Fällung der homogen in Wasser suspendierten Kulturen auftrat. Da aber die Aufschwemmung der Kulturen nach kurzem Erhitzen in verdünnter Salzsäure Fehlingsche Lösung stark reduzierte, dachte ich an eine kohlehydratartige Substanz. Derartige Substanzen („Gummiarten“) sind ja aus nicht-pathogenen Mikroorganismen schon mehrfach dargestellt worden. Ich prüfte also zunächst die bereits vorliegenden Methoden zur Isolierung des vermuteten „Gummis“.

Salkowski<sup>1)</sup> gewinnt den Hefegummi durch Auflösen und Kochen der Hefe in 3-proz. Kalilauge und darauf folgender Fällung mittels Fehlingscher Lösung. Diese Methode versagte, weil der Friedländer-Gummi durch Fehlingsche Lösung nicht ausfällt. Der Hefegummi ist anders zusammengesetzt und besteht, wie Meigen und Spreng<sup>2)</sup> gezeigt haben, aus Mannose und Glukose.

Schardinger<sup>3)</sup> gewinnt die schleimige Substanz eines *Bacillus der Aërogenes*-gruppe durch Auflösen der Kulturen in verdünnter Salzsäure (40 Stunden bei 37°), Abfiltrieren von den Bazillenleibern und Gewinnung eines klaren Filtrats. Beim Friedländer-Bazillus wird jedoch auf diese Weise nie ein klares Filtrat, d. h. eine Trennung von den ungelösten Bazillenleibern, erhalten (auch nicht durch langdauerndes Zentrifugieren). Die Fällung erzielt Schardinger durch Kalkmilch. Der Friedländer-Gummi wird jedoch durch Kalkmilch nicht gefällt. Schardingers Gummi liefert bei der Oxydation Schleimsäure und Oxalsäure, enthält also Galaktose und Glukose (bzw. Mannose).

O. Emmerling<sup>4)</sup> hat nachgewiesen, daß der *Bacillus lactis aërogenes* ein Galaktan (d. i. Polysaccharid der Galaktose) bildet, wenn die Kulturflüssigkeit Milchsucker oder Galaktose enthält. Das Galaktan wurde von ihm aus dem klaren Filtrat der Kulturflüssigkeit durch Alkoholfällung gewonnen. Diese Methode kam also für meine Zwecke nicht in Betracht, da die Gummisubstanz des *Pneumobazillus* erst von den Bazillenleibern getrennt und in Lösung gebracht werden mußte.

Scheibler<sup>5)</sup> erhielt aus dem *Leukonostok* durch Kochen mit Kalkmilch, Entfernung des überschüssigen Kalks durch Kohlensäure, Ansäuern mit Salzsäure und Fällung mit Alkohol eine Gummisubstanz, die er Dextran nennt, da sie bei der Hydrolyse Glukose lieferte. Dieses Verfahren habe ich nicht nachgeprüft, da mir die Originalarbeit nicht zugänglich war. Ich vermute aber jetzt, nachdem ich die Eigenschaften des Friedländer-Gummi kenne, daß der Friedländer-Gummi durch Scheiblers Methode gewonnen werden kann.

Boekhout<sup>6)</sup> gewinnt aus dem *Streptococcus hornensis* die schleimige Substanz durch Füllen der Kulturen (in Rohrzucker-Pepton-Nährsalzlösung) mittels Alkohol. Da es sich bei diesem Verfahren um keine Reindarstellung handeln kann (es wird auf diese Weise die Gesamttrockensubstanz der Bakterien genommen), habe ich das Verfahren gar nicht nachgeprüft.

Die in der Literatur niedergelegten Angaben über die Gewinnung von „Gummiarten“ aus Bakterien und ihre Trennung von Eiweißkörpern ermöglichten also die Reingewinnung des Friedländer-Gummi nicht. Es mußte deshalb ein eigenes Verfahren ausprobiert werden. Zunächst handelte es sich darum, die Gallerthüllen von den Bazillen zu trennen und in Lösung zu bringen. Diese Lösung mußte die schleimige Konsistenz verlieren, da sonst die ungelösten Bazillenleiber sich nicht entfernen lassen und eine fraktionierte Fällung des Gummi und etwaiger Eiweißkörper nicht möglich ist, und außerdem durften durch alle diese Eingriffe die in Frage kommenden Substanzen nicht weitgehend chemisch verändert werden.

Die nach verschiedenen Umwegen erprobte Methode habe ich bereits an anderer Stelle<sup>7)</sup> kurz erwähnt und dort auch schon festgestellt, daß

1) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 27. S. 497.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 55.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8.

4) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 33. S. 2477.

5) Zeitschr. d. Ver. f. Rübenzuckerind. 1874.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6.

7) Münch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 49.

die Gallerthülle aus einem Polysaccharid besteht. Es folgen jetzt nähere Angaben über Methode bzw. deren Verbesserung und über die Identifizierung der Gummisubstanz.

Um eine eventuelle störende Vermischung der Bakterien-substanz mit den organischen Stoffen des Nährbodens zu vermeiden, wurde der von Schardinger<sup>1)</sup> angegebene Nährboden, bestehend aus Rohrzucker, Nährsalzen und Wasser, versuchsweise beimpft. In diesem Nährboden wächst jedoch der Friedländer-Bazillus nicht. Es mußte also ein Nährboden gewählt werden, der organische stickstoffhaltige Substanzen enthält. Als der beste Nährboden erwies sich der Glycerinnähragar nach Heim<sup>2)</sup> mit folgender Zusammensetzung: Fleischwasser mit 1,5 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Kochsalz, 3 Proz. Glycerin. Da die üppigste Schleimbildung aërob (an der Oberfläche der Bouillon, auf Agarstrichkulturen) stattfindet, werden Glycerin-Agarplatten an der Oberfläche mit Material von 24—48 Stunden alten, besonders üppig gewachsenen Kolonien beimpft und die Bakterien mit dem Drigalski-Spatel oder einem in analoger Weise gebogenen Platindraht ausgestrichen.

Die Kulturen werden 24 Stunden bei 37° bebrütet, noch einige Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, bis sie das üppigste Wachstum erreicht haben, und dann mit destilliertem Wasser (20 ccm pro Platte) übergossen. Der üppige, völlig zusammenhängende und zähschleimige Bakterienrasen quillt dann noch stärker auf und läßt sich nach einigen Stunden mit einem Drigalski-Spatel leicht vom Nährboden abstreifen, ohne daß Teile des Agars mitgehen. Die Massenkulturen werden in einem Glaskolben gesammelt, gut durcheinander geschüttelt und mit einer Lösung von Natriumacetat zur Endkonzentration von 1/10 normal (d. i. 9 Vol. Kulturaufschwemmung und 1 Vol. 13,6-proz. Natriumacetatlösung) versetzt, dann die Reaktion geprüft, die schwach sauer sein soll. Hiezu wird mit Essigsäure eben angesäuert, dann 3 Vol. 96-proz. Alkohol zugegeben und gelinde durcheinander geschüttelt. Dabei fällt die gesamte Bakterien-substanz in einem festen, zusammenhängenden Gerinnsel aus, die Flüssigkeit klärt sich rasch. Die den ausgefallten Bakterien noch anhaftenden löslichen Produkte des Nährbodens, wie Pepton und Salze, werden durch 3—4maliges Waschen, zuerst in gleicher, dann in steigender Alkoholkonzentration entfernt (die letzte Waschflüssigkeit ist dann nach dem Eindampfen aus dem Wasserbad biuretfrei). Dann wird die Masse in Alkohol von steigender Konzentration entwässert, in Alkohol absolutus fein zerrieben, der Alkohol durch Äther und dieser durch Erwärmen in warmem Wasser entfernt. Es genügt auch die Verreibung der Masse in 96-proz. Alkohol und die Abdampfung des Alkohols auf dem Wasserbad. Man erhält dann die Gesamtsubstanz der Kulturen nach Zerreiben im Mörser als schneeweißes, äußerst leichtes und lockeres Pulver. Die weitere Verarbeitung ging stets von der so vorbehandelten Kulturmasse = Gesamttrockensubstanz aus.

0,5 g der Gesamttrockensubstanz werden in 90 ccm destilliertes Wasser gebracht. Die Substanz quillt darin allmählich auf und läßt sich durch mehrmaliges Umschütteln während des Quellens im Verlauf von 12—24 Stunden homogen verteilen. Es resultiert eine farblose, stark getrübbte, sehr visköse und fadenziehende Flüssigkeit, welche bei Untersuchung in Tusche die Bazillen einzeln und wohl erhalten zeigt, nur ist

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8.

2) Lehrb. d. Bakt. 4. Aufl. S. 89.

die Gallerthülle meist etwas schmaler und weniger scharf begrenzt wie bei den frischen Kulturen. Nun werden 10 ccm 10-proz. Kalilauge zugesetzt, so daß also die Bakterien in 1-proz. Kalilauge suspendiert sind und 10 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt; die Flüssigkeit bleibt dabei trüb und färbt sich etwas gelblich. Hierauf wird in kaltem Wasser abgekühlt und 2 Stunden zentrifugiert. Man erhält dann eine leicht opaleszente Flüssigkeit und ein scharf abgesetztes Sediment. Dieses besteht aus den ungelösten Bazillenleibern, die noch gut färbbar und in der Form wenig verändert sind, in Tusche jedoch keine Gallerthülle und kein deutliches Ektoplasma mehr zeigen. Die Flüssigkeit gibt schwache, aber deutliche Biuretreaktion, mit Essigsäure eben angesäuert eine minimale Zunahme der Opaleszenz, aber selbst nach längerem Stehen keinen Niederschlag, mit Essigsäure und Ferrozyankalilösung keine stärkere Trübung als mit Essigsäure allein. Sie enthält 14 mg Stickstoff in 100 ccm. Da die Gesamttrockensubstanz 4,9 Proz. Stickstoff enthält, also 500 mg Substanz 24,5 mg Stickstoff, so geht bei der Vorbehandlung durch 1-proz. Kalilauge über die Hälfte des Stickstoffes der Bazillenleiber in Lösung, und zwar größtenteils in der Form von Peptonen.

Die Flüssigkeit wird vorsichtig vom Sediment abpipettiert, mit Essigsäure eben angesäuert und dann mit 3 Vol. 96-proz. Alkohol versetzt. Schon bei 2 Vol. Alkohol tritt starke Trübung und beginnende Flockung, bei 3 Vol. vollständige flockige Fällung und Klärung der Flüssigkeit ein. Der Niederschlag (= Gummisubstanz) wird abzentrifugiert, die Flüssigkeit enthält nach Berechnung auf das ursprüngliche, d. h. vor dem Alkoholzusatz eingenommene Volumen den gleichen Stickstoffgehalt, es sind also durch den Alkohol keine stickstoffhaltigen Substanzen mitgefällt worden. Diese Tatsache wird zur Reingewinnung der Gummisubstanz benutzt, d. h. zur Entfernung von gelösten stickstoffhaltigen Substanzen, die innerhalb des ausgefällten, großflockigen Gummieniederschlags eingeschlossen sind. Zu diesem Zweck wird die erste Gummifällung wieder in destilliertem Wasser gelöst, 2 Stunden zentrifugiert, wobei es nochmals zur Sedimentierung von Bazillenleibern kommt, die sich beim 1. Zentrifugieren nicht abgesetzt hatten. Von diesem Sediment wird vorsichtig abpipettiert, dann der Gummi zum zweitenmal gefällt, indem auf 9 Vol. der Flüssigkeit 1 Vol. 13,6-proz. Natriumacetatlösung zugesetzt, mit Essigsäure angesäuert und dann mit 3 Vol. 96-proz. Alkohol versetzt wird. Lösen und Wiederausfällen des Gummis wird im ganzen 3-4mal wiederholt. Zuletzt wird der Gummi in Alkohol von steigender Konzentration (um das Natriumacetat, die Essigsäure und das Wasser zu entfernen) gewaschen und der absolute bzw. 96-proz. Alkohol auf dem Wasserbad abgedampft.

Der Stickstoffgehalt des Gummis ist, wenn man die Lasseignesche Probe mit 20 mg Gummi verwendet, oft schon nach der 1. Fällung = 0; Kjeldahl-Bestimmungen mit größeren Mengen des Gummis (50 bis 100 mg) ergaben nach der

- |            |      |         |
|------------|------|---------|
| 1. Fällung | 2,0  | Proz. N |
| 3.     "   | 0,75 | "   "   |
| 5.     "   | 0,28 | "   "   |

Daraus geht hervor, daß es zwar sehr schwer ist, die letzten Reste von Stickstoff (Peptone) aus dem Gummi zu entfernen, daß aber der Stickstoffgehalt nicht auf organischer Bindung beruhen kann, da er durch das wiederholte Umfällen fast auf 0 reduziert wird.

Der gereinigte Gummi ist ein schneeweißes, sehr lockeres Pulver. Er

reduziert Fehlingsche Lösung nicht, löst sich in Wasser unter Opaleszenz. Diese Lösung ist nicht fadenziehend; sie klärt sich durch Kochen nicht, wird durch Zusatz von Alkali fast völlig klar und trübt sich durch Zusatz von Essigsäure (ohne aber einen Niederschlag zu geben). Neutrales und basisches Bleiacetat bewirken sofort eine Fällung, doch ist die Fällung durch 10-proz. Lösung von neutralem Bleiacetat und durch den Liquor plumbi subaceticici der Pharmakopöe nicht vollständig.

Fehlingsche Lösung: keine Reaktion.

Barytwasser: keine Reaktion.

Sättigung mit Ammonsulfat: vollständige Ausscheidung des Gummis. Durch diese Fällung könnte also auch eine Reinigung des Gummis von beigemengtem Pepton versucht werden.

Jodreaktion:

Eine mit Kochsalz gesättigte Jodjodkalilösung gibt mit der Gummilösung Rotfärbung (also die gleiche Reaktion wie Glykogen).

### Identifizierung der Zuckerarten, die den Gummi zusammensetzen.

200 mg des 5-fach umgefällten Gummis werden in 20 ccm 3-proz. Schwefelsäure 10 Stunden mit Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt. Es resultiert eine klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit mit etwas feinflockigem Sediment. Die Flüssigkeit wird mit Baryumkarbonat neutralisiert bis zu einem geringen Ueberschuß von Baryumkarbonat, durch ein gehärtetes Filter abgenutscht, der Rückstand mit wenig Wasser nachgespült, die Filtrate vereinigt und auf dem Wasserbad auf 10 ccm eingedampft.

6 ccm davon werden nach Gattermann<sup>1)</sup> mit einer erkalteten Lösung von 0,4 g salzsaurem Phenylhydrazin und 0,6 g Natriumacetat in 3 ccm Wasser versetzt und über Nacht stehen gelassen. Es bilden sich keine Kristalle, der Gummi enthält also keine Mannose. Denn bei dem Vorhandensein von Mannose müßte Mannosephenylhydrazon ausfallen [Votček und Vondráček<sup>2)</sup>]. Die geringen Mengen eines rötlichen Sedimentes (vermutlich schon Spuren von Galaktosephenylosazon, da das gleiche Sediment auch mit reiner Galaktose und der gleichen Phenylhydrazinlösung bei Zimmertemperatur in Spuren gebildet wird) werden abzentrifugiert, die Flüssigkeit vom Sediment abgegossen und  $\frac{3}{4}$  Stunde im Wasserbad erhitzt. Die Flüssigkeit trübt sich zunächst etwas, beim Erkalten rasch stärker, und liefert über Nacht ein reichliches Sediment von ziemlich kurzen, garbenförmig angeordneten Kristallen. Diese werden in Wasser gewaschen und aus heißem 60-proz. Alkohol umkristallisiert. Je nach der Raschheit des Auskristallisierens aus mehr oder weniger konzentrierter Lösung sind die Kristalle etwas verschieden: bei raschem Ausfallen in Stechapfelform oder Schollen mit radiärer Streifung, bei langsamerem Ausfallen längere, garbenförmig angeordnete Nadeln. Der Schmelzpunkt der Kristalle lag bei 186°, wobei sich die Substanz braun färbt und einen deutlichen Meniskus bildet. Es handelt sich also um Galaktosephenylosazon. Zur Kontrolle wurde aus reiner von Merck bezogener Galaktose das Osazon auf gleiche Weise hergestellt. Dieses zeigte gleiches Verhalten der Kristallisation und des Schmelzpunktes.

Andere Monosen scheinen in dem Gummi nicht enthalten zu sein. Die Orzin-Salzsäure- und Phlorogluzin-Salzsäurereaktionen auf Pentosen fielen mit dem hydrolysierten Gummi völlig negativ aus, dagegen war

1) Praxis d. organ. Chemikers. 9. Aufl. S. 224.

2) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 37. S. 3854.

die Kohlehydratreaktion von Molisch und v. Udransky stark positiv. Von Hexosen käme noch Mannose in Betracht (diese ist nicht vorhanden, da kein Mannosephenylhydrazon gebildet wurde) sowie Glukose. Letztere ist wegen ihres höheren Schmelzpunktes ( $205^{\circ}$ ) auszuschließen. Auch sind die Kristalle des Glukosephenylosazons anders geformt als die der Galaktoseverbindung. Ein Kontrollversuch mit einem Gemisch beider Zuckerarten ergab, daß die Beimischung der Glukose an den Kristallen der Osazone mikroskopisch zu erkennen gewesen wäre. Es werden eigenartige Mischkristalle gebildet. Votocek und Vondracek<sup>1)</sup> geben ein Verfahren an, aus einem Gemisch von Glukose und Galaktose die beiden Monosen durch verschiedene Hydrazine nachzuweisen. Ich konnte aber das Ausfallen der Galaktoseverbindung durch Methylphenylhydrazin bei  $15^{\circ}$  nicht bestätigen, auch nicht in einem Kontrollversuch mit einer Lösung von Galaktose — Merck.

Damit war also der Nachweis erbracht, daß die Gallerthülle des Friedländer-Bazillus ein Galaktan, d. i. ein Polysaccharid der Galaktose, enthält.

Es handelt sich um die gleiche Substanz, die O. Emmerling<sup>2)</sup> bei dem *B. lactis aërogenes* in der Kulturflüssigkeit, also nicht als Bestandteil der Bakterienzelle, nachgewiesen hat. Als Muttersubstanz des Friedländer-Galaktans kommt hauptsächlich das Glyzerin in Betracht; da aber die Gallerthüllen auch in Peptonbouillon und sehr üppig in tierischen Säften, z. B. im Blutserum, gebildet werden, kommen auch andere Stoffe als Bausteine in Betracht, vor allem wohl Traubenzucker. Dies ist interessant, da der *B. lactis aërogenes*, wie Emmerling nachwies, in Traubenzuckerlösungen keine Gummisubstanz bildet. Weitere Untersuchungen sollen jetzt noch feststellen, ob der Friedländer-Bazillus aus Traubenzucker ein Galaktan oder ein Dextran, d. i. ein Polysaccharid des Traubenzuckers bildet.

### Verhalten des Gummis bei der Hefegärung.

4 ccm der hydrolysierten Gummilösung werden zu einem Gärungsversuch verwendet. Da die Lösung infolge des Baryumkarbonats schwach alkalisch reagierte, wurde sie mit Essigsäure eben angesäuert, dann mit Natrium bicarb. wieder eben alkalisch gemacht und mit Hefe versetzt. Kontrollen ergaben, daß die Hefe Glukose gut vergor, ohne Zucker aber kein Gas bildete. Die hydrolysierte Gummilösung wurde vergoren, und zwar zeigte das Gärröhrchen nach 24 Stunden eine Menge von Kohlensäure, welche der Hälfte der in der Lösung enthaltenen Zuckermenge entsprach. Das gleiche Verhalten zeigte eine Lösung von reiner Galaktose nach Zusatz einer geringen Menge von Natrium bicarb. — Reine Galaktose wird bekanntlich von Hefe nicht angegriffen (nur nach Zusatz von Hefedekokt); daß Galaktose nach Zusatz einer Spur Natrium bicarbonicum von Hefe vergoren wird, ist neu. Nach 48 Stunden bei Zimmertemperatur ist die Vergärung vollständig. Ein Kontrollversuch von Hefe allein mit einem Zusatz der gleichen Menge Natrium bicarb. (50 mg) ergab natürlich keine Gasentwicklung.

Es fragte sich jetzt noch, ob die Gallerthülle nur aus dem Polysaccharid besteht oder ob sie nicht stickstoffhaltige Körper daneben enthält. Der Gummi enthielt ja nach der ersten Alkoholfällung 2 Proz.

1) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 37. S. 3854.

2) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 33. S. 2477.



Stickstoff und gab eine schwache Biuretreaktion. Diese Peptonbeimengung konnte von der Gallerthülle sowie von aufgelösten Bestandteilen des Zellprotoplasmas stammen. Durch ein schonenderes Verfahren der Gummigewinnung ließ sich diese Frage beantworten. Man läßt die alkalische (1-proz. Kalilauge) Emulsion der Gesamttrockensubstanz 16 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank bei 37° stehen. Die Gallerthüllen lösen sich dabei allmählich auf, die Bazillenleiber mit dem Ektoplasma bleiben jedoch erhalten. Das Ektoplasma muß demnach anders zusammengesetzt sein als die Gallerthülle. Um die Lösung klar zu bekommen, muß man 3—4 Stunden scharf zentrifugieren und dann noch durch eine dicke Papierschicht filtrieren (Filtrierpapier wird zer-kocht, bis es völlig homogen zerfasert ist, in dicker Schicht auf die Nutsche gebracht und abgesaugt). Die minimal opaleszente Lösung wird mit Essigsäure angesäuert (wobei die Opaleszenz nicht zunimmt) und dann der Gummi durch 3 Vol. 96-proz. Alkohol gefällt. Man erhält dann den Gummi schon bei der 1. Fällung stickstofffrei (Lasseignesche Probe negativ). Die Ausbeute ist bei diesem Verfahren nicht so groß wie bei der Erhitzung der alkalischen Suspension im kochenden Wasserbad, da noch etwas reduzierende Substanz an den abzentrifugierten Bazillen haften bleibt, während das Zentrifugat der auf dem Wasserbad 10 Minuten lang erhitzten Bazillen nicht mehr reduziert. (Sämtliche Reduktionen treten erst nach Hydrolyse mittels Erhitzen in verdünnter Salzsäure ein.) Die Auflösung der Gallerthülle bei 15° oder 37° ist aber deshalb wichtig, weil bei dieser Temperatur die Gallerthülle allein gelöst, Ektoplasma und Entoplasma dagegen nicht angegriffen wird. In der Gallerthülle etwa vorhandenes Eiweiß müßte also aus der Lösung durch den Alkohol gleichzeitig mit dem Gummi ausgefällt werden; da aber der auf diese Weise gewonnene Gummi stickstofffrei ist, so folgt, daß die Gallerthülle nur aus dem Polysaccharid besteht und keinen Eiweißkörper enthält.

Die Gallerthülle ist außerordentlich wasserreich. Durchschnittlich ergeben 10 Agarplatten von 9 cm Durchmesser und bei 2 mm Dicke des Bakterienrasens ein Volumen an Kultur von 12,6 ccm, nach der Entwässerung durch Alkohol nur 1,0 g Gesamttrockensubstanz. Es ergibt sich daraus ein Wassergehalt von 92 Proz.

Der hohe Wassergehalt und die Kohlehydratnatur der Kapsel erklärt zwanglos das Verhalten der Kapsel bei der Fixierung und Färbung. In der 1. Mitteilung<sup>1)</sup> habe ich erwähnt, daß der Friedländer-Bazillus sowohl in Kulturen als im Tierkörper breite Kapseln bildet; am besten sind die Kapseln sichtbar, wenn die Bazillen in Tusche aufgeschwemmt werden. (Chinesische Tuben mit physiol. Kochsalzlösung 5-fach verdünnt.) Bei diesem Verfahren wird die Kapsel in ihrer natürlichen Größe sichtbar. Die Kulturkapseln sind dann ebenso groß wie die „tierischen Kapseln“. Streicht man jedoch das Material unmittelbar vom Agar auf dem Objektträger aus und fixiert durch Hitze oder Sublimat, so geht die Kapsel verloren, weil sie schrumpft. Bestände sie aus Eiweiß, so müßte sie in ihrer Form und Größe ebenso wie z. B. die Zellen des Blutes fixierbar sein. Das Schrumpfen erklärt sich durch den enormen Wassergehalt der Gallerthülle, der Mangel an Fixierbarkeit durch eiweißkoagulierende Mittel (z. B. Hitze oder Sublimat) ist bedingt durch die Kohlehydrat-Natur der Kapsel. Bei der Johneschen Methode (Hitze-fixation, Gentiana-

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 65.

violettfröbung, Untersuchung in Wasser) schrumpft die Kapsel zunächst ebenfalls und bleibt infolgedessen bei der Untersuchung in Zedernöl unsichtbar, weil sie in Oel nicht wieder aufquillt; untersucht man aber in Wasser, so kann man sehr gut verfolgen, wie sie allmählich wieder aufquillt und immer deutlicher sichtbar wird (nach 30 Minuten hat sie das Maximum ihrer GröÙe erreicht). Das gleiche Quellungsvermögen zeigt der rein gewonnene Gummi.

Nun kann aber die Kulturkapsel ganz gut in ihrer unveränderten Form und GröÙe fixiert werden, wenn man die Kulturbazillen vor der Fixation in eiweißhaltiger Flüssigkeit [reines oder verdünntes Blutserum u. a. nach dem Vorschlag von Hiß<sup>1)</sup>, Epstein<sup>2)</sup>, Buerger<sup>3)</sup>] aufschwemmt. Man kann hiebei die Ausstriche lufttrocken werden lassen und dann einige Minuten in gesättigter Sublimatlösung fixieren oder man fixiert das noch feuchte Präparat durch Osmiumdämpfe. Diese Weidenreichsche Osmiumfixierung<sup>4)</sup> hat besonders Hamm<sup>5)</sup> zur Darstellung der Bakterienkapseln mit Erfolg verwendet. Bei diesen Methoden wird die Form der Kapsel jedoch nicht durch Fixation der Kapselsubstanz, sondern durch Fixation des umgebenden Mediums erhalten; der Inhalt der Kapsel schrumpft trotzdem, wie die Färbung zeigt, zu unregelmäßigen, meist radiär gestellten Fäden zusammen (vgl. die Mikrophotogramme in meiner Arbeit dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 69). Auch in Ausstrichen von Bouillonkulturen läßt sich die Kapsel durch Sublimat fixieren, da die Nährflüssigkeit infolge ihres Peptongehaltes durch Sublimat fixiert wird. Die Kulturkapsel erwies sich durch alle diese Methoden als sehr wasserhaltig und arm, bzw. frei an fixierbarer Substanz.

Die im Tierkörper gebildete Kapsel dagegen schien mir kompakter zu sein; sie bleibt bei der Fixation durch Hitze oder Sublimat in ihrer Form erhalten und schrumpft dabei nur wenig<sup>6)</sup>. Mit den üblichen Farben z. B. Karbolfuchsin oder Methylenblau ist sie homogen färbbar. Ich schloß daraus, daß sie eine durch Hitze oder Sublimat homogen fixierbare Substanz enthalten müsse, und es war in Frage gestellt, ob die „Kulturkapsel“ und die „tierische Kapsel“ chemisch identisch sind. Zur Entscheidung dieser Frage mußte versucht werden, ob man durch Bedingungen, welche die chemische Natur der Kapselsubstanz sicher nicht verändern, der Kulturkapsel die Eigenschaften der tierischen Kapsel verleihen kann und umgekehrt. Da der Unterschied zwischen beiden Kapseln am schärfsten bei der Hitze-fixierung mit folgender Fuchsinfärbung (Ziehlsche Lösung 5-fach verdünnt) zutage tritt, wurde diese Methode für die folgenden Untersuchungen gewählt: die tierische Kapsel erscheint dabei in ihrer Form erhalten, nur etwas verkleinert und homogen dunkelrot gefärbt, während die Kulturkapsel zu unregelmäßigen, rot gefärbten Körnchen und Fäden an der Peripherie des Bazillus zusammenschrumpft. In Tusche dagegen sind beide Arten von Kapseln nicht zu unterscheiden.

Schwemmt man lebende Kulturbazillen, die auf Glyzerinagar oder in Peptonbouillon typisch, d. h. mit breiter, in Tusche sichtbarer Kapsel gewachsen sind, in reinem oder mit physiol. Kochsalzlösung zu gleichen Teilen verdünntem Blutserum auf, so ist die Kapsel durch Hitze fixier-

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Ref. Bd. 31. S. 302.

2) Observations etc. N. Y. Soc. Vol. 5. 1905. p. 4.

3) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 39. S. 216.

4) Folia haematol. Vol. 3. 1906. p. 1.

5) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 43.

6) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 65.

und durch Fuchsin homogen-dunkelrot färbbar wie die tierische Kapsel. Stärkere Verdünnung des Serums ergibt keine „tierische Kapsel“.

Läßt man die Bazillen in unverdünntem Blutserum wachsen (aktives oder bei 56° inaktiviertes), so tritt ebenfalls die tierische Kapsel auf. Wird die so gewachsene Kultur 10-fach mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt, so ist im Präparat sofort die „tierische Kapsel“ verschwunden.

Verdünnt man das Blut einer an Septikämie gestorbenen Maus 10-fach mit physiol. Kochsalzlösung, so ist ebenfalls sofort die tierische Kapsel verschwunden.

Daraus geht hervor, daß die Kulturkapsel nach Aufschwemmung in Blutserum sofort die Eigenschaften der tierischen Kapsel annimmt, während die tierische Kapsel nach stärkerer Verdünnung des eiweißreichen tierischen Mediums sofort die Merkmale der Kulturkapsel zeigt.

Weiterhin konnte ich beobachten, daß die Verwandlung der Kulturkapsel in die tierische Kapsel ein rein passiver, von den vitalen Funktionen der Bazillen unabhängiger Vorgang ist. Eine gut gewachsene Agarkultur wurde in 0,6-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann durch 1-stündiges Erhitzen auf 65° abgetötet. Die Gallerthüllen bleiben dabei erhalten (Tuschepräparat), doch sind sie meist etwas schmaler geworden und heben sich weniger scharf von der Tusche ab. Wird diese abgetötete Aufschwemmung mit Blutserum im Verhältnis 1:3 vermischt und sofort ein Präparat angefertigt, so zeigen an den dünneren Stellen des Ausstrichs mehrere der Bazillen eine typische, tierische Kapsel.

Noch schöner gelingt dieser Versuch, wenn man die Aufschwemmung der abgetöteten Bazillen mit Serum vermischt, das einige Minuten auf 65—67° erhitzt ist, die Bazillen gut darin verteilt und dann mehrere Stunden in den Brutschrank von 37° stellt. Nach 14 Stunden wurde durch Hitze-fixation und Fuchsin-färbung untersucht; in den dickeren Stellen des Ausstrichs waren die Gallerthüllen in ihrer natürlichen Form und Größe unverändert fixiert, aber bedeutend schwächer gefärbt als der Untergrund; sie wirkten hier wie im Tuschepräparat als Aussparung. An den dünneren Stellen des Ausstrichs dagegen zeigten sich die Kapseln ebenso fixiert und stark gefärbt wie die „tierischen Kapseln“. Um die Kapseln herum zeigte sich dann stets ein mehr oder weniger breiter ungefärbter Bezirk. Erst in einiger Entfernung findet sich wieder der gefärbte Untergrund der Eiweißlösung. Dies beweist, daß in dünneren Schichten die Eiweißlösung nicht ganz gleichmäßig am Objektträger antrocknet, sondern sich um die Bazillen herum zusammenzieht. So entsteht eine Anlagerung von Serumeiweiß an die Gallerthüllen der Bazillen, und hiedurch erklärt sich die Fixier- und Färbbarkeit der Kapseln.

Das gleiche Bild lieferten lebende Bazillen, wenn sie in derart vorbehandeltem Serum gewachsen waren. Letzterer Befund deckt sich mit den Angaben von Fürst<sup>1)</sup>, der nachwies, daß beim Wachstum von Kapselbazillen in Eiweißlösungen unter bestimmten Bedingungen eine Hülle aus „sekundär um die Zelle geschichteten, nicht der Zelle selbst zugehörigem Material entsteht. Diese Hüllen sind durch Trypsin löslich und erweisen sich damit als Eiweiß. Auf diese Hülle folgt erst eine schmalere, innere Schicht, welche die eigentliche Kapsel darstellt. Letztere ist nicht durch Trypsin angreifbar“. Auch ich konnte beobachten, daß ein sehr gut proteolytisch wirkendes Trypsinpräparat die Gallerthüllen

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 56.

des Friedländer-Bazillus nicht angreift (auch nicht nach Abtötung der Bazillen durch 1-stündiges Erhitzen auf 65°).

Im Gegensatz zu Fürst sah ich aber die Bildung der sekundären Hüllen auch in aktivem oder bei 56° inaktiviertem Serum, wenn sie hier auch weniger ausgeprägt waren.

Die Erhitzung des Serums auf 65° wirkt anscheinend so, daß durch diese Temperatur ein Gerinnungszustand der Serumeiweißkörper eingeleitet wird (das Serum wird bei dieser Temperatur gallertig) und daß dadurch die Anlagerung von Serumeiweiß an die Gummihüllen der Bakterien (Kolloidverdichtung an Oberflächen) begünstigt wird. Fertigt man ein Präparat von Bazillen an, die im Tierkörper selbst gewachsen waren, z. B. einen Blutausschlag, so treten ja ebenfalls während der Anfertigung des Präparates Gerinnungsvorgänge ein, so daß sich die Fixier- und Färbbarkeit der im lebenden Tierkörper gebildeten Kapseln größtenteils ebenso durch eine Anlagerung von gerinnendem Eiweiß erklärt. So kommt es, daß die Kulturkapsel in dem auf 65° erhitzten Serum die Merkmale der tierischen Kapsel noch viel schöner annimmt als in aktivem oder bei niedriger Temperatur inaktiviertem Serum. Eine Imbibierung der Gallerthülle mit gelöstem Serumeiweiß ist nicht der Grund für die Fixier- und Färbbarkeit der tierischen Kapsel, denn sonst müßte die Darstellung dieser Kapsel besser mit vollkommen flüssigem Serum als mit fast geronnenem gelingen. Das Gegenteil ist aber der Fall.

Aus den Versuchen geht eindeutig hervor, daß sich die tierische Kapsel nur durch angelagertes, tierisches Eiweiß von der Gallerthülle der Kulturbazillen unterscheidet, und daß diese Anlagerung ein rein passiver, an das Leben der Bazillen nicht gebundener Vorgang ist. Die in Kulturen oder im Tierkörper gebildete Kapsel ist also an sich chemisch identisch.

Weiterhin wurde die Zusammensetzung der Gesamttrockensubstanz aus Kohlehydrat, Eiweiß und Aschenrückstand bestimmt. Zunächst wurde in einem Vorversuch bestimmt, nach welcher Zeit der Hydrolisierung (durch gelindes Sieden in 20-fach verdünnter Salzsäure vom spez. Gewicht 1,20 am Rückflußkühler) das Maximum der Reduktion erreicht war. Dies war nach 3 Std. der Fall. Dann wurden 202,4 mg Trockensubstanz in 50 ccm gleich konzentrierter Salzsäure 3 Std. auf dem Asbeststeller und mit Rückflußkühler in gelindem Sieden erhalten, mit 33-proz. Natronlauge stark alkalisch gemacht und auf 60 ccm aufgefüllt. Hierauf wurde die Titration mit Fehlingscher Lösung ausgeführt. Nach Zusatz von 50 ccm der Gummilösung waren 20 ccm Fehlingscher Lösung entfärbt (die Lösung ergab am Filterpapier mit Ferrozyankalilösung keinen braunen Ring mehr, vgl. Brugsch-Schittenhelm<sup>1)</sup>). Auf die verwendete Trockensubstanz berechnet ergab dies (nach Soxhlet)<sup>2)</sup> 122,64 mg Galaktose. Dies entspricht also einem Galaktosegehalt von 60,59 Proz.

Die Gesamttrockensubstanz enthält 4,9 Proz. Stickstoff, d. i.  $4,9 \times 6,25 = 30,625$  Proz. Eiweiß.

Bei der trockenen Veraschung im Porzellantiegel hinterläßt die Gesamttrockensubstanz 9 Proz. Asche.

Zum Schluß möchte ich noch kurz zu einer Arbeit H a m m s<sup>3)</sup> Stel-

1) Lehrb. klin. Untersuchungsmeth. 2. Aufl. S. 455.

2) Zit. in Hoppe-Seylers Handb. d. physiol. u. path.-chem. Analyse. 8. Aufl. S. 113.

3) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 43.

Stellung nehmen. Hamm erhitzte Kulturen des Friedländer-Bazillus in verdünnter Salzsäure und zentrifugierte; das Sediment bestand dann aus kapsellosen Bazillen, die Flüssigkeit stellte somit eine Lösung der Kapselsubstanz dar. Diese prüfte er nach 10 Min. langem Erhitzen auf Reduktion (Trommer) und erhielt ein negatives Ergebnis. Der Nachweis der Kohlehydratnatur der Kapsel ist ihm, wie ich auf Grund seiner Versuchsanordnung vermute, infolge unrichtiger Ausführung der Reduktionsprobe entgangen. Da er weiterhin aus der alkalischen Aufschwemmung der Bazillen durch Essigsäure eine Fällung erhielt, hält er die Kapselsubstanz für Nukleoalbumin bzw. Nukleoprotein. Dieser Beweis ist jedoch nicht stichhaltig, da die Fällung in einer Suspension eintrat, in der die Bazillen mit wohl erhaltenen Kapseln versehen waren. Die Fällung wäre nur beweisend für die Natur der Kapselsubstanz, wenn sie in einer Lösung der Kapselsubstanz erfolgt wäre, so aber handelt es sich vermutlich um die Fällung einer Substanz, die aus dem Ento- oder Ektoplasma in Lösung gegangen war oder sogar um die Fällung einer Substanz des Nährbodens. Außerdem fehlen Versuche über die Isolierung der Substanz und über den Nachweis des Phosphors bzw. der Purinbasen.

Ich vermute, daß auch die Gallerthüllen der übrigen pathogenen Kapselbildner aus einem Polysaccharid bestehen, denn sie verhalten sich hinsichtlich der Fixierung und Färbung ganz analog wie die Friedländer-Kapsel (bei Pneumokokken und Milzbrandbazillen geprüft)<sup>1)</sup>. Daß manche dieser Bakterien die Kapseln nur im Tierkörper bilden, spricht durchaus nicht dagegen, daß ihre Kapsel ebenfalls kohlehydratartiger Natur ist. Bedingung für die Kapselbildung ist nur, daß das Nährmedium dem Bakterium vollkommen zusagt. Dies ist bei manchen Arten nur im Tierkörper der Fall, bei einigen auch in künstlichen Kulturen.

Die Untersuchungen von Preisz<sup>2)</sup> über das „Anthrakomuzin“ sind nicht beweisend für die Muzinnatur der Kapselsubstanz; er löste 2 bis 3 Wochen alte Pferdeserumkulturen des Milzbrandbazillus in Kalilauge auf, filtrierte durch Tonkerzen und erhielt im klaren Filtrat durch Essigsäure eine Fällung. Diese Fällung kann ebenso gut ein Nukleoprotein des gelösten Zellprotoplasmas sein. Weitere chemische Untersuchungen fehlen.

Durch die Reindarstellung der Substanz der Gallerthüllen kann nunmehr die aggressive und immunisierende Wirkung der „Kapseln“ geprüft werden. Ebenso ist dies bereits mit dem Nukleoprotein des Friedländer-Bazillus möglich. Gewinnung und Eigenschaften dieser Substanz habe ich bereits kurz an anderer Stelle<sup>3)</sup> erwähnt.

### Zusammenfassung.

1) Der Friedländersche Pneumoniebazillus läßt bei der Untersuchung in Tusche 3 Bestandteile deutlich erkennen: das Entoplasma, das Ektoplasma und die Gallerthülle. Entoplasma und Ektoplasma sind lebenswichtige Bestandteile der Bakterienzelle, die Gallerthülle dagegen ist ein Sekretionsprodukt und besteht aus Galaktan, d. i. einem Polysaccharid der Galaktose, und viel Wasser. Die Gallerthülle enthält keine Eiweißkörper. Höchstwahrscheinlich sind die Kapseln der übrigen pathogenen Kapselbildner auch kohlehydratartiger Natur.

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 65.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 44 u. 58.

3) München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 49.

2) Die Kapsel des Friedländer-Bazillus ist an sich infolge ihrer Kohlehydratnatur und ihres enormen Wassergehaltes durch eiweißkoagulierende Mittel nicht fixierbar. Sie geht deshalb bei den gewöhnlichen Fixier- und Färbemethoden durch Schrumpfung verloren. Bei der Fixierung durch Hitze, besser durch Osmiumsäure oder Sublimat in eiweißhaltigem Medium bleibt sie dadurch erhalten, daß das Medium der Form der Kapsel entsprechend fixiert wird. Daß die „tierische Kapsel“ durch Hitze in ihrer Form fixierbar und homogen färbbar ist, beruht lediglich auf der Anlagerung von Eiweißkörpern der tierischen Körpersäfte, besonders von Eiweißkörpern in beginnender Gerinnung. Dieser Vorgang ist ein rein passiver, denn er läßt sich auch an abgetöteten Kulturbazillen herbeiführen. Andererseits verlieren die tierischen Kapseln sofort ihre charakteristischen Eigenschaften, wenn man die tierische Flüssigkeit stärker mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt. Daraus geht hervor, daß ein chemischer Unterschied zwischen den in Kulturen und den im Tierkörper gebildeten Kapseln nicht besteht.

*Nachdruck verboten.*

## Beobachtungen über Typhusbazillenträger.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. Sigfrid Knauer, vormaligem Assistenten am Institut.

Mit 1 Kurve im Text.

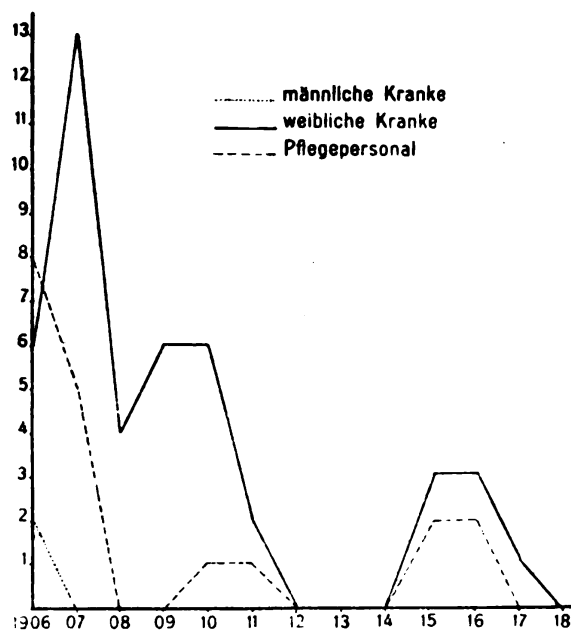
### I.

Früher konnte man in manchen Irrenanstalten die auffallende Beobachtung machen, daß der Typhus dort eigentlich nie ausstarb. Alljährlich traten größere oder kleinere Endemien auf, für die man nie eine rechte Erklärung finden konnte, da es sich meist um Einzelfälle handelte, die sich über das ganze Jahr verteilten. So erkrankten z. B. in einer nicht weit von Jena gelegenen Irrenanstalt im Jahre 1906 8 Geisteskranke, und zwar 2 Männer und 6 Frauen, und 8 Pflegepersonen; unter diesen befanden sich 3 Wärter und 5 Wärterinnen. Vielleicht war diese besonders beim Pflegepersonal verhältnismäßig recht hohe Zahl wenigstens zum Teil bedingt durch einen in jenem Jahr auffallend starken Zustrom von Typhuskranken in das mit der Irrenanstalt verbundene allgemeine Krankenhaus. Doch brachte das Jahr 1907 wieder eine ganze Reihe von Erkrankungen innerhalb eines kurzen Zeitabschnittes, ohne daß dieses Mal sonderlich viel Kranke von auswärts gekommen wären. Es erkrankten 13 geisteskranken Frauen, von denen 3 starben, und 3 Wärterinnen, 1 Waschfrau und 1 Wärter; auch in diesem Jahre also überwiegend Frauen. Eine Erklärung für die Entstehung der Erkrankungen konnte nicht gegeben werden.

Im Jahre 1908 begann man nun das Augenmerk auf Bazillenträger zu richten. Von allen Kranken, die früher einmal Typhus durchgemacht hatten, — soweit feststellbar — wurden Stuhl und Blut auf Bazillenausscheidung und Typhusagglutination im Bakteriologischen Institut zu Jena untersucht, ohne daß Bazillenträger gefunden wurden. Doch war

es auffällig, daß in allen den Jahren die Erkrankungen vorwiegend auf einer einzigen Abteilung sich abspielten. Es erkrankten 1908 4 geistes- kranke Frauen, von denen 1 starb. Um solche Kranke besser isolieren zu können, begann man mit dem Bau eines kleinen Isolierpavillons. Auch im Jahre 1909 erkrankten nur Frauen, 6 an der Zahl, von denen 2 starben. Im Jahre 1910 traten 7 Fälle auf, alles Frauen mit Aus- nahme eines Mannes, der mit Fahren der Aborttonnen beschäftigt war. (Die Spülklosettanlagen wurden 1913 fertig.) Die Fälle traten wieder vereinzelt auf und kamen wieder auf Filiale 1 zum Ausbruch. Aber auch in diesem Jahre wurde eine Bazillenträgerin noch nicht gefunden.

Das geschah erst im März des nächsten Jahres. Es handelte sich um eine chronisch geisteskranke Frau, die 1907 einen Typhus über- standen hatte, und nun Typhusbazillen mit dem Kote ausschied. Die Frau wurde im fertiggestellten Isolierpavillon abgesondert, ebenso außer-



Kurve 1.

dem noch 5 geistes- kranke Frauen, bei denen nur ein Typhusverdacht bestand, da der Widal zwar positiv war, Bazillen im Stuhle aber nicht nachgewiesen werden konnten. Ebenso verhielt es sich mit einer Pflegerin, die gleichfalls isoliert wurde und nun die Pflege der Bazillenträger über- nahm. In diesem Jahre er- krankten nur 2 geistes- kranke Frauen und 1 Pflegerin an Typhus. Da die Isolierung schon im März erfolgen konnte, wurde diese Infektionsmög- lichkeit frühzeitig ausgeschal- tet und so das Auftreten neuer Typhusfälle verhindert.

So blieb denn der Typhus mit einem Schlage in den Jahren 1912, 1913, 1914 ganz

aus. Nur im Jahre 1914 trat bei einer Geisteskranken eine fieberhafte Darmerkrankung auf. Eine genaue bakteriologische Untersuchung ließ schließlich bei 2 Frauen, die sich schon seit vielen Jahren in der Anstalt befanden, und niemals eine typhusverdächtige Erkrankung durchgemacht hatten, Typhusbazillen im Stuhl nachweisen. Auch diese beiden Frauen wurden natürlich isoliert. Trotzdem traten 1916 5 Typhuserkrankungen auf, und zwar 3 bei geisteskranken Frauen und 2 bei Pflegerinnen. Diese kleine Endemie ließ sich ebenfalls auf eine weitere Bazillenträgerin zurückführen, die keine akuten Krankheitserscheinungen bot. Sie wurde in gleicher Weise wie die anderen isoliert. Die bakteriologischen Unter- suchungen von Blut und Stuhl wurden auch weiterhin im Hygienisch- bakteriologischen Institut ständig durchgeführt.

1917 trat nur eine einzige Typhuserkrankung bei einer geistes- kranken Frau auf. Und wieder wurde eine Bazillenträgerin festgestellt, die seit mehreren Jahren sich in der Anstalt befand und in der Zeit keinen Typhus durchgemacht hatte. Die wiederholte Untersuchung hatte bis dahin keine Typhusbazillen im Stuhl nachweisen lassen, bis das end-

lich in diesem Jahre geglückt war. Im Jahre 1918 war keine Typhuserkrankung vorgekommen, aber auch jetzt wurde eine Typhusbazillenträgerin festgestellt, die gleich den übrigen isoliert wurde. Auch das Jahr 1919 blieb von Typhuserkrankungen frei. Die graphische Darstellung (Kurve 1, S. 238) zeigt das Verhältnis der Erkrankungen in den einzelnen Jahren.

Man weiß heute, daß das Auffinden von Bazillenträgern nicht eben leicht ist. Denn in der Regel erfolgt das Ausscheiden der Bazillen in Schüben, so daß erst konsequent und lange durchgeführte Untersuchungen unter Umständen zur Entdeckung des Trägers führen können. Wir hatten beispielsweise Gelegenheit, den Stuhl eines Bazillenträgers in größeren Abständen zu untersuchen. Der Befund war zum letzten Male am 13. Febr. 1914 positiv gewesen und blieb bei den folgenden Untersuchungen negativ. So am 6. Mai und 15. Juli 1914, am 4. Mai und 29. Okt. 1915, am 14. April 1916, am 20. Jan., 10., 16. und 22. Febr. 1917. Die Untersuchungen wurden jetzt allwöchentlich ausgeführt, um endlich ein sicheres Ergebnis zu erzielen, am 3., 10., 17., 29. März, am 6. April 1917. Die Untersuchung am 13. April ergab plötzlich positiven Befund. Dann freilich blieben die Untersuchungen wieder negativ, bis zu dem am 6. Okt. 1918 erfolgten Tode. Die bakteriologische Untersuchung der Organe ließ Typhusbazillen nur im Pankreas und einem Gallenstein finden, ein seltener Befund, der vielleicht die nur gelegentliche Ausscheidung erklärt. Prigge fand in der Ausscheidung Pausen bis zu 2½ Jahren. Man sieht, wie vorsichtig man bei der Beurteilung sein muß, ob ein Typhusbazillenträger seine Bazillen verloren hat oder nicht. Tatsache ist, daß ein Verschwinden nur noch selten erfolgt, wenn die Bazillenausscheidung länger als 1 Jahr besteht.

Jene Erscheinung der schubweisen Entleerung von Typhusbazillen — J. Müller fand unter 6 Fällen bei je zweien eine dauernde Ausscheidung, eine in regelmäßigen Abständen und eine ganz unregelmäßige — führte auch in unserem Falle erst spät zur Entdeckung der Schuldigen. Und auch nicht aller mit einem Male, sondern während einer ganzen Reihe von Jahren tauchten immer wieder neue Bazillenträger auf, die bis dahin der Feststellung entgangen waren. Mit der Isolierung der Bazillenträger hörten auch die kleinen Endemien auf, um immer wieder aufzuflackern, wenn ein bis dahin verborgener Bazillenträger wieder Bazillen ausschied.

Wir haben daher bei 2 anderen Irrenanstalten, in denen ebenfalls immer wieder unvermutet Typhusfälle auftraten, die Untersuchung der Insassen ganz systematisch so durchgeführt, daß wir für 1—1½ Jahre eine geübte und zuverlässige Laborantin abgaben, die dort in einem eigens eingerichteten Laboratorium fortgesetzt die Stühle aller irgendwie als Bazillenträger in Betracht kommenden Insassen untersuchte; mit dem Erfolg, daß eine Anzahl Bazillenträger allmählich entdeckt wurde und daß nach deren Absonderung die Hausinfektionen aufhörten.

In den Irrenanstalten ist die Ansteckung durch Typhusbazillenträger besonders leicht möglich, da der enge Kontakt der vielfach unsauberen Kranken die Uebertragung in besonders hohem Maße fördert. Weit gefährlicher aber sind die Bazillenträger im öffentlichen Leben, weil hier die Ausbreitung auf ein viel weiteres Gebiet und auf sehr mannigfachem Wege erfolgen kann. So sind nach Forster für 20 Proz. aller Typhuserkrankungen Bazillenträger die nachweisbare Ursache. G. Mayer kommt zu etwas kleineren Zahlen, während Schumacher bei



einer Endemie in Cröv 26,6 Proz. der Typhusfälle direkt und gar 44,4 Proz. indirekt auf Kontakt mit Bazillenträgern zurückführen konnte.

Bazillenträger sind beim Typhus bekanntlich überhaupt nicht selten. Nach Statistiken sollen 3—5 Proz. aller Genesenen — da die Ausscheidung schubweise erfolgt, ist das die Mindestzahl, — Typhusbazillen ausscheiden. Freilich ist die Gefahr doch nicht so groß, wie sie nach dieser Zahl scheinen könnte, da bei weitem nicht alle Menschen an Typhus erkranken, die mit Typhusbazillen in nähere Berührung kommen, und da die dauernd in der Umgebung von Bazillenträgern lebenden Personen infolge gelegentlicher leichter Infektionen gegen neue Uebertragungen immun werden, während Neuhinzuziehende besonders leicht erkranken. In dieser Hinsicht ist die Beobachtung von Friedel interessant, wo ein Dienstmädchen bei jedem Dienstwechsel neue Erkrankungen hervorrief. Wir kennen einen ähnlichen Fall in unserem Bezirk, wo in der Familie eines Milchschweizers jeder neueintretende Gehilfe Typhus bekam und sich schließlich die Frau des Schweizers als Bazillenträgerin entpuppte.

## II.

Nachdem die Tatsache der Bazillenausscheidung erkannt worden war, handelte es sich um Feststellung des Sitzes der Typhusbazillenherde, da diese Frage auf der einen Seite von hoher wissenschaftlicher Bedeutung war, auf der anderen Seite aber von großem Werte für das therapeutische Vorgehen zur Befreiung der Träger von ihren Bazillen sein konnte.

Schon 1888 hatte Fütterer bei Typhusleichen die Erreger in Rein- kultur in der Gallenblase angetroffen. Später fand man dann bei den Typhusbazillenträgern die Bazillen meistens dort, wobei häufig starke entzündliche Prozesse vorhanden waren, so daß die Annahme berechtigt schien, daß die Gallenblase der Sitz allen Uebels sei. Die Sache hat sich nachher nicht als so einfach herausgestellt, weil die Typhusbazillen offenbar auch an anderen Stellen sich ansiedeln können. Denn wenn man die Gallenblase in solchen Fällen operativ entfernte, so blieben die betreffenden Kranken doch mitunter Bazillenträger, wenn auch vielleicht nach einem längeren ausscheidungsfreien Zeitabschnitt.

Loebe beschrieb einen Fall, wo außer in der Gallenblasenwand auch im Dünndarm und Quercolon Typhusbazillen in großer Menge zu finden waren, die Gallenblase aber durch einen im Ductus cysticus fest eingekleiteten Stein keinen oder nur unbedeutenden Abfluß nach dem Darm zu hatte. Auch fanden sich keine Bazillenherde in der Gallenblasenwand, von wo aus die Einsaat dauernd hätte erfolgen können. Der positive bakteriologische Befund im Darm muß also die Ansiedlung von Bazillen auch an anderen Stellen — im Darm, in den Gallenwegen, oder in der Leber — annehmen lassen. Der Fall von Pribram beweist, daß die Ausscheidung, allerdings von Paratyphusbazillen, auch beim Fehlen der Gallenblase möglich ist. Hier war 4 Jahre vorher die Gallenblase entfernt worden, und doch schied die Patientin bei einer Nachuntersuchung Paratyphusbazillen längere Zeit nachweisbar aus. Auch von unseren Fällen zeigten 4 einen negativen Befund in der Galle, und nicht nur dort, sondern 3mal an allen untersuchten Stellen. Jedenfalls dürfen wir nicht durchgehend eine einzige Stelle der Bazillenansiedlung annehmen, wenn wir auch sagen können, daß die Gallenblase einen Prädilektionssitz in dieser Hinsicht bildet. Eine endgültige Entscheidung wird in Zukunft immer schwieriger werden, weil die Typhus-

bazillenträger in den Irrenanstalten, die das hauptsächlichste Untersuchungsmaterial lieferten, durch geeignete Maßnahmen im Aussterben begriffen sind.

Das große Sterben, das in den Irrenanstalten mit dem Knappwerden der Ernährung einsetzte, gab uns Gelegenheit, eine größere Anzahl von Typhusbazillenträgerleichen zu untersuchen, die vorher schon längere Zeit hindurch unter unserer bakteriologischen Kontrolle gestanden hatten. Die Sektion wurde bald nach Eintreten des Todes gemacht, wobei Leber, Magen, Duodenum und Pankreas im Zusammenhang herausgenommen und so in einem besonderen Gefäß dem Hygienischen Institut zugeschickt wurden. Hier wurden dann sofort Kulturen von den einzelnen Organen angelegt und nach Vollendung der Sektion einzelne Stücke zur späteren mikroskopischen Untersuchung in Formol eingelegt. Es wurden im ganzen 9 Fälle auf diese Weise verarbeitet, von denen 3 vor Zeiten einen sicheren Typhus durchgemacht hatten. In einem 4. Falle war er sehr wahrscheinlich und lag bereits 46 Jahre zurück. In einem weiteren Falle waren vor Jahren stärkere Durchfälle aufgetreten, ohne daß man jetzt eine sichere Diagnose annehmen konnte. In den übrigen Fällen war von einer typhusähnlichen Erkrankung auch viele Jahre zuvor nichts bekannt. Die Todesursache war zweimal eine Tuberkulose, meist allgemeiner Kräfteverfall und Herzschwäche; einmal handelte es sich um eine alte Luetika, die an zunehmender Herzschwäche mit Oedemen zugrunde ging.

Der Organbefund wies keinesfalls häufig auf stärkere Veränderungen im Bereich der Gallenblase hin, nur fanden sich 8mal, also fast regelmäßig, Gallensteine. Die Gallenblase zeigte nur 3mal stärkeres Oedem, während in 3 anderen Fällen ausgedehnte Verwachsungen auf frühere Entzündungsprozesse hindeuteten. Besonders mitgenommen war die Gallenblase einer Bazillenträgerin, die 10 Jahre zuvor einen Typhus durchgemacht hatte und an einer Lungentuberkulose starb. Hier war die Gallenblase durch Narbenbildungen so stark geschrumpft, daß sie zuerst überhaupt nicht gefunden wurde, da sie außerdem starke Verwachsungen mit der Umgebung zeigte. Es war dies derjenige Fall, in dem Gallensteine fehlten. Sonst wurden selbst in den Fällen, wo die Gallenblase viel Steine enthielt, keine Narben oder Geschwüre gefunden. Die übrigen Organe, d. h. die Leber in erster Linie, zeigten nur Veränderungen, wie sie dem allgemeinen Körperzustand entsprachen. So fand sich häufig eine mehr oder weniger starke braune Atrophie, zweimal eine frische Miliartuberkulose. Nur in einem Falle, wo Bazillen aber nirgends nachgewiesen werden konnten, waren die Veränderungen in der Leber ausgedehnter, indem außer einer starken, braunen Atrophie und einer leichten Hämosiderose stellenweise noch Ansammlungen von Lymphozyten um Kapillaren bis zu pseudotuberkelartigen Anhäufungen im Parenchym angetroffen wurden.

Die große Rolle, die die Gallenblase als Sitz bei Typhusbazillenträgern spielt, mag die folgende tabellarische Uebersicht darstellen (Tab. I, S. 242).

In der Galle fanden sich also fast stets Typhusbazillen, und zwar meist in Reinkultur, merkwürdigerweise gerade in 4 der am hiesigen Institut untersuchten Fälle keine. Ob in anderen Teilen des Körpers Typhusbazillen häufiger gefunden worden wären, entzieht sich unserer Kenntnis, da eine solche Untersuchung meistens unterlassen wurde. Auch kommen ja für die Beurteilung der Bazillenträger praktisch nur

Tabelle I.  
Das Vorkommen von Typhusbazillen in den Organen von Bazillen-  
trägern.

		Galle	Gallenblasenwand	Gallenwege	Gallensteine	Leber	Milz	Magen	Dünndarm	Dickdarm	Pankreas	Niere	Mesenterialdrüsen	Knochenmark	Herzblut	Urin	Bauchhöhle	Lunge	Nebenniere
Bindseil	S	+	.	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Blumenthal	O	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Böttcher	S	+	.	.	.	.	—	.	+	+	.	.	.	—	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	.	.	—	.	—	—	.	.	.	—	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	.	.	—	.	—	—	.	.	.	—	.	.	.	.	.
Daeschler	O	+	.	.	.	.	.	.	.	+	ante op.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	+	.	.	.	.	.	.	.	+	post op.	—	.	.	.	.	.	.	.
Dehler	O	+	.	+	.	.	—	.	+	+	.	—	.	.	—	.	.	.	.
	O	+	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	+	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Dörr	O	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Droba	O	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Fromme	O	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Gilbert-Girode	O	+	+	.	+	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Goebel	O	+	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	.
Grimme	S	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.
	O	+	—	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Günther-Böttcher	S	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
Hammond	S	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hilgermann	O	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kamm	S	+	.	+	+	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	+	+	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Küster-Günzler	O	+	.	.	.	.	.	.	+	+	.	.	.	+	—	.	.	+	.
	O	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	(+)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kurpjuweit	O	(+)	.	.	.	.	.	.	+	ante op.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	O	(+)	.	.	.	.	.	.	—	post op.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Levy-Kayser	S	+	+	.	+	+	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Loele	S	+	+	+	—	—	.	.	+	+	.	.	.	.	—	.	.	.	.
Mayer	S	—	—	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Messerschmidt	S	+	+	+	+	+	.	.	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	+
Müller	S	+	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	.	+	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Nieter-Liefmann	S	+	.	.	+	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pribram	O	+	.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Reisinger	O	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Roscoe	S	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Simon	O	+	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Knauer	S	+	.	+	—	+	—	.	—	—	+ <sup>1)</sup>	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	+	—	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	+	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	—	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	+	.	.	—	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	—	.	.	+	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
	S	—	.	.	.	—	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.

(+ = positive, - = negative Befunde), O = Operationen, S = Sektionen.

<sup>1)</sup> Im Ductus Wirsungianus.

die Siedlungsstätten in Betracht, von denen aus eine Ausscheidung in die Außenwelt möglich ist, also z. B. nicht das nach Typhus nicht selten erkrankende Knochenmark usw. Wir sehen aber auch, daß z. B. die untersuchten Lebern in der Hälfte der Fälle positiven Befund ergaben, also zweifellos von dort aus eine Bakterienausscheidung hätte in Betracht kommen können. Einen ebenso großen Anteil an positiven Befunden zeigte der Dünndarm, was freilich für unsere Frage ohne Bedeutung ist, da die offene Verbindung mit der Gallenblase jederzeit ein Einschwemmen der Keime in den Darm möglich macht.

Interessant ist in unseren Fällen der eine Befund von Bazillen im Pankreas, anscheinend das einzige Mal, daß dort Typhusbazillen gefunden wurden. Von dort ist wohl die, wenn auch seltene Ausscheidung in den Darm erfolgt, was um so eher anzunehmen ist, als sonst nur aus einem Gallensteine Typhusbazillen sich herauszüchten ließen. Der andere Fall, wo Typhusbazillen im Ductus Wirsungianus gefunden wurden, ist dagegen wohl eher durch ein Hineinwandern der Bazillen nach dem Tode zu erklären, als durch eine dauernde Ansiedlung daselbst. Die Uebersicht zeigt uns ferner, daß die Typhusbazillen mitunter auch in Milz und Knochenmark gefunden wurden, ganz vereinzelt auch in anderen Organen, wie Lunge und Nebennieren. Doch sind diese Organe nur selten auf Typhusbazillen untersucht worden und kommen für die gewöhnliche Art der Bazillenausscheidung auch nicht in Betracht. In den verhältnismäßig wenigen Fällen, in denen die Gallenwege auf Typhusbazillen untersucht wurden, wurden fast stets Typhusbazillen gefunden; in unseren Fällen wiederum dreimal keine. Doch gilt hier ähnliches wie für den Dünndarm, wenn auch an die Ansiedlung der Keime in der Wand der Gallenwege zu denken ist.

Ueber die Frage, wie es zur Entstehung und Erhaltung solcher Brutstätten kommt, ist viel und lange gestritten worden, und man kann wohl sagen, daß sie einwandfrei noch immer nicht geklärt ist. Die eine von den drei Möglichkeiten ist wohl endgültig fallen gelassen, nämlich, daß die Bazillen aus dem Darne in die Gallenblase hinaufwandern. Denn da sie meist in Reinkultur angetroffen werden, so ist nicht einzusehen, warum gerade die Typhusbazillen allein hinaufwandern sollten, wenn man auch bedenken muß, daß die Typhusbazillen lebhaft sich bewegende Bakterien sind und in Galle besonders gut gedeihen.

Versuche von Koch, Chiarolanza, Chiari, Blumenthal, Dörr, Emmerich und Wagner, Blackstein und Welch an Kaninchen und Meerschweinchen zeigten aber, daß die intravenöse Injektion von Bazillenaufschwemmungen nach kurzer Zeit die Typhusbazillen in der Gallenblase nachweisen läßt. Da wir nun wissen, daß zu Beginn der Typhuserkrankung die Bazillen beim Menschen in der Blutbahn kreisen, so liegt der Schluß auf der Hand, daß auch beim Menschen die Ansiedlung in der Gallenblase von der Blutbahn aus erfolgt, um so mehr, als die Ausscheidung der Bazillen aus dem Darm erst mit der Geschwürsbildung in Erscheinung tritt. Auch wenn nach Laubenheimer der Tierversuch nicht bestimmend sein darf, weil bei keinem von unseren Versuchstieren eine dem menschlichen Typhus analoge Erkrankung nach der Einspritzung von Bazillen in die Ohrvene erzeugt werden kann, so sind doch zum mindesten in jenem Punkte analoge Verhältnisse geschaffen.

Jedenfalls muß man mit zwei Möglichkeiten der Ansiedlung auf dem Blutwege rechnen. Werden die Erreger in die kleinsten Gefäße der

Gallenblasenwand geschleudert, setzen sie sich hier fest und wandern dann in die Galle ein; oder treten sie in die Leber über und werden so durch die Gallenwege in die Gallenblase ausgeschieden?

In den frischen Typhusfällen muß der Befund von Typhusbazillen in der Galle wohl auf eine Ausscheidung durch die Leber zurückzuführen sein. Das ist fast regelmäßig der Fall. So fand Chiari bei 22 Typhusleichen 19mal Typhusbazillen und Schebrow bei 64 Sektionen sie 51mal, davon 36mal in Reinkultur; Fränkel und Krause konnten die Anwesenheit von Typhusbazillen in der Gallenblase in allen Stadien der Erkrankung kulturell nachweisen. Fütterer und dann Biedl und Kraus fanden, daß die Leber im Blute kreisende Mikroorganismen sehr leicht in die Galle übertreten läßt. Die letzteren vermochten in 3 Fällen bereits 13, 20 und 35 Minuten nach der intravenösen Injektion die Mikroorganismen in der steril aufgefangenen Galle nachzuweisen. Bei Typhusbazillenträgern spielt die Ausscheidung aus Herden in der Gallenblasenwand wahrscheinlich eine größere Rolle. Das würde auch übereinstimmen mit der Erfahrung, daß man von Bazillenträgern erst geraume Zeit nach der Erkrankung reden kann, da die Herde in der Gallenblasenwand zweifellos längere Zeit brauchen, um zur vollen Entwicklung und zum Durchbruch nach der Lichtung kommen zu können. Eine Einwanderung aus der Galle in die Gallenblasenwand ist freilich zum mindesten auch denkbar, da Messerschmidt bei direkter Impfung von Typhusbazillen in die Gallenblase von Kaninchen eine chronische Cholecystitis erzeugen konnte und in der verdickten Wand Bazillennester fand. Doch zeigen die Typhusbazillen im allgemeinen nur geringe Neigung zu infiltrativer Durchwanderung der Gewebe.

Nun fand Koch in Querschnitten durch die Gallenblase eines in der 3. Woche an Typhus gestorbenen Mannes herdförmige Anordnungen der Bazillen in der Umgebung kleinster Schleimhautarterien, was vermuten läßt, daß die Bazillen aus solchen Herden in die Galle eingewandert sind. Doch ist dies bis jetzt der einzige derartige Befund geblieben, was Zufall sein kann, da histologische Untersuchungen nicht gerade häufig gemacht worden sind. Bindseil fand freilich in solchen Schnittpräparaten eine Menge kleiner Typhusbazillenhäufchen in der Tiefe der Submucosa, konnte aber keinerlei Beziehungen zu den Kapillaren feststellen. Da die Bazillen indessen einerseits schon sehr kurze Zeit nach intravenöser Injektion in der Galle sich finden und Dörr andererseits nach Unterbindung des Ductus cysticus keine Bazillen im Gallenblaseninhalte nachweisen konnte, so kann man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß zum mindesten die erste Infektion der Gallenblase durch die herabfließende Galle erfolgt. Die Versuche von Chiarolanza, der trotz Unterbindung des Ductus cysticus Typhusbazillen in der Gallenblase regelmäßig nachweisen konnte, sind gerade wegen des mikroskopischen Nachweises von massenhaften Typhusbazillenembolien in den Schleimhautzotten mit Vorsicht zu beurteilen, weil in 5 von 9 Fällen die Galle blutig war und in den übrigen Fällen die Wand bis zur Nekrose geschädigt war und Blutungen zeigte. Die von Blumenthal in ähnlicher Weise ausgeführten Versuche zeitigten in einem Teile der Fälle das gleiche Ergebnis. Auch er fand Blut in der Gallenblase infolge von Stauung und erklärte damit den Befund von Typhusbazillen in der Gallenblase, um so mehr, als er in den Leberkapillaren zahlreiche Typhusbazillen fand. Die Ursache der dauernden Bazillenausscheidung aber wird in vielen Fällen wohl auf Herde in der Gallenblasenwand zurückzuführen sein.

Da die Typhusbazillen im allgemeinen keine Eiterung hervorrufen und ihre Anwesenheit in der Gallenblase häufig keinerlei Beschwerden erzeugt, so entzieht sich die dauernde Ansiedlung oft der klinischen Erkenntnis, denn auch Gallensteine, die sich bei Typhusbazillenträgern sehr häufig finden, können vollkommen beschwerdefrei ertragen werden. Ja, nach Forster machen nur 10 Proz. der Gallensteinerkrankungen klinische Symptome. Wie häufig aber Gallensteine bei Bazillenträgern sich fanden und wie sie sich im einzelnen verhalten, mag folgende Uebersicht zeigen, die aus Befunden bei Operationen und Sektionen zusammengestellt ist.

Tabelle II.  
Typhusbazillenträger und Gallensteine.

	Fälle mit Steinen				Ohne Steine
	Steine untersucht	Steine nicht untersucht	Typhusbazillen		
			+	—	
Bindseil	1	.	1	.	.
Blumenthal	1	.	.	1	.
Böttcher	.	.	.	.	3
Dehler	2	1	.	2	.
Dörr	1	.	1	.	.
Droba	1	.	1	.	.
Fromme	.	3	.	.	.
Gilbert-Girode	.	1	.	.	.
Goebel	1	1	1	.	.
Grimme	1	1	1	.	.
Günther-Böttcher	.	.	.	.	1
Hammond	.	1	.	.	.
Kamm	1	.	1	.	1
Küster-Günzler	.	1	.	.	.
Kurpjuweit	.	.	.	.	1
Levy-Kayser	1	.	1	.	.
Loele	1	.	.	1	.
Messerschmidt	1	.	1	.	.
Müller	2	.	2	.	1
Nieter-Liefmann	1	.	1	.	.
Pribram	.	1	.	.	.
Simon	1	.	.	1	.
Knauer	7	1	3	4	1
	23	11	14	9	8

Unter 42 solcher Fälle fanden sich 34mal Gallensteine und nur 8mal keine, wobei noch zu bedenken ist, daß kleine Gallensteine bei genügend weiten Gallenwegen beschwerdefrei abgestoßen werden können. Man darf auf Grund so kleiner Zahlen natürlich keine Verhältniszahlen herausrechnen wollen, doch ist die Häufigkeit der Gallensteinträger offensichtlich.

Die bakteriologische Untersuchung wurde in 11 Fällen leider nicht ausgeführt, so daß diese für die Beurteilung ausscheiden. In 14 Fällen von 23 fanden sich aber in den Steinen sichere Typhusbazillen, während sie in 9 Fällen fehlten. Hier sind die Steine vielleicht also schon vor der Typhuserkrankung vorhanden gewesen. Aber auch hier könnten die Typhusbazillen als Steinbildner gewirkt haben, entweder indirekt durch das Hervorrufen einer Entzündung oder direkt; dann wären die Bazillen nur im Laufe der Zeit abgestorben. In der Mehrzahl solcher negativer Fälle lag die Typhuserkrankung schon sehr lange zu-

rück. Andererseits aber können die Typhusbazillen sehr lange lebensfähig bleiben, wie Droba zeigte, der noch 17 Jahre nach einem sicheren Typhus die Erreger aus dem Kern eines Gallensteines herauszüchten konnte. Es besteht also eine enge Beziehung zwischen Typhusbazillenträgern und Gallensteinleiden, sei es, daß durch vorhandene Gallensteine eine Ansiedlung der Typhusbazillen erleichtert wird, sei es, daß die durch die Typhusbazillen erzeugte Ausfällung von Gallenbestandteilen oder Entzündung zur Steinbildung geführt hat. Jedenfalls vermochte man (Emmerich und Wagner, Gilbert und Dominici, Gilbert und Fournier, Mignot, Richardson, Cushing, Italia, Venema) wiederholt durch Injektion von Typhusbazillen in die Gallenblase verschiedener Tiere Konkrementbildung zu erzeugen.

Nun wird man wohl der Tatsache eines Bazillenbefundes in den Steinen keine absolute Beweiskraft hinsichtlich der Genese zuschreiben dürfen, weil immerhin die Möglichkeit eines nachträglichen Einwachsens in schon vorhandene Steine besteht. Da aber in einer ganzen Anzahl von Fällen der bakteriologische Befund negativ war, — ich erinnere nur an Simon, der sämtliche 20 Steine bakteriologisch untersuchte — so ist nicht recht einzusehen, weshalb die Typhusbazillen bei äußerlich gleichen Bedingungen sich so verschieden verhalten sollten. Man muß also doch wohl wenigstens für einen Teil der Fälle der Ansiedlung von Typhusbazillen einen Einfluß auf die Steinbildung zuschreiben.

Man kann von vornherein annehmen, daß die Anwesenheit von Typhusbazillen in der Gallenblase niemals ganz gleichgültig sein wird, daß aber die Anwesenheit von Gallensteinen meist schwerere Veränderungen herbeiführen wird. Die ausgeführten Operationen und Sektionen haben das auch gezeigt. Leider ist die mikroskopische Untersuchung nur in einem kleinen Teil der Fälle erfolgt, und auch die makroskopische Beurteilung ist leider häufig nur sehr unvollkommen oder fehlt ganz. In den untersuchten Fällen wurden so gut wie immer deutliche Veränderungen gefunden; Stauungen, Wandverdickungen, Verwachsungen, Geschwürsbildungen. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich mit Ausnahme eines Falles von Kamm stets Entzündungsvorgänge.

Auch unsere Fälle, — sie stammen aus verschiedenen Irrenanstalten und waren während des Krieges eingegangen — wurden, soweit Organe noch vorhanden waren, durchmikroskopiert, sind aber für eine genauere Analyse der pathologisch-histologischen Vorgänge leider nur in beschränktem Umfange zu brauchen, da die Fixierung nicht immer rechtzeitig erfolgt und gut gelungen war.

Die Zotten der Schleimhaut waren eigentlich nur in einem von den mikroskopischen Fällen in ihrer Struktur gut erhalten und hier von der Norm nicht abweichend. In den tieferen Schichten aber fanden sich hier starkes Oedem und Lockerung des Gewebes mit stark erweiterten Lymphspalten. In der Umgebung prall gefüllter Gefäße der Subserosa zeigten sich reichliche Ansammlungen von Lymphozyten und sonstigen Entzündungszellen. Bazillen ließen sich nicht nachweisen. Makroskopisch fand sich außer 4 Steinen in der ziemlich stark gefüllten Gallenblase und dem starken Oedem nichts Besonderes.

In einem weiteren Falle waren die Zotten schmal, fehlten zum Teil ganz, so daß die Schleimhaut meist sehr niedrig erschien. Außer einer ödematösen Lockerung des Gewebes ließ sich nichts Besonderes nachweisen. Der Inhalt der Gallenblase bestand aus sehr zahlreichen Steinen. In den übrigen Fällen waren die Zotten plump, breit und ver-



hältnismäßig niedrig; zum Teil fehlten sie ganz, so daß die Muskulatur sich stellenweise nahe der Oberfläche befand. Entzündungserscheinungen ließen sich an einigen Stellen vermuten, nachzuweisen waren sie aber nirgends; ebensowenig Bazillen mit den verschiedensten Färbungen. Die tieferen Schichten waren ödematös und aufgelockert. Die Gallenblasen waren stark gefüllt und enthielten Steine; doch erschien nur in einem Falle die Schleimhaut dick und gelockert.

Die Gallenwege wurden, soweit sie makroskopisch untersucht werden konnten, ohne wesentliche Veränderungen gefunden. Auch mikroskopisch zeigten sie keinerlei krankhafte Erscheinungen. Der eine Fall, bei dem Typhusbazillen aus dem Pankreas herausgezüchtet wurden, bot auch in diesem Organe, soweit die Beurteilung noch möglich war, nichts Krankhaftes; insbesondere fanden sich keinerlei Entzündungserscheinungen.

Nebenbefunde, wie ältere und frische Tuberkulosen in mesenterialen Lymphknoten, Leber und Niere können hier unbeachtet bleiben. Auch die mehr oder weniger schweren Veränderungen in der Leber wie Verfettungen, braune Atrophie, geringgradige, diffuse oder herdförmig lokalisierte, interstitielle Entzündungen stehen wohl kaum mit dem Bazillenträgertum in direkter Beziehung.

Wichtiger sind die bakteriologischen Untersuchungen, da sie mit Genauigkeit ausgeführt werden konnten. Da zeigt sich nun das überraschende Ergebnis, daß unter unseren 9 Fällen 4mal die Galle keine Typhusbazillen enthielt; von diesen 4 Fällen waren 3mal auch Gallenwege, Leber, Pankreas und Darm frei davon und nur 1mal enthielten, wie schon erwähnt, das Pankreas und ein Gallenstein lebende Typhusbazillen. Bemerkenswert ist der negative Befund besonders in dem einen Falle, wo die letzte Untersuchung 4 Monate zuvor noch Bazillenausscheidung mit dem Stuhl ergeben hatte. Hier liegt die Annahme eines anderen, aber unentdeckt gebliebenen Sitzes für die Bazillenausscheidung nahe. In den beiden anderen, negativen Fällen aber muß man wohl eine Ausheilung annehmen, eine Möglichkeit, die bislang wohl mit Recht als im ganzen unwahrscheinlich hingestellt wurde, hier aber durch die negativen Untersuchungsbefunde von Stuhlproben während 6 Jahren gestützt wird.

Die Verteilung der Typhusbazillen auf die einzelnen Gewebe und Organe war in den übrigen Fällen verschieden, doch nicht sonderlich ausgedehnt, da in einem Falle nur aus der Galle, in zweien nur aus der Galle und aus Gallensteinen und in einem vierten außer aus der Galle nur noch aus dem Ductus choledochus und einem Ductus hepaticus Typhusbazillen herausgezüchtet werden konnten. Eine nähere Uebersicht gibt die Tabelle I.

Daß bei den Untersuchungen mit allen Vorsichtsmaßregeln vorgegangen wurde, braucht nicht besonders erwähnt zu werden. So wurden z. B. die Gallensteine mit steriler Pinzette angefaßt, in Alkohol getaucht und abgebrannt, dann an einer anderen Stelle gefaßt und wiederum mit Alkohol abgebrannt. Dann wurde der Stein zerquetscht, und Partikelchen aus dem Innern wurden ausgesät.

#### Literatur.

Anton u. Fütterer, Untersuchungen über Typhus abdominalis. (München. med. Wochenschr. 1888. Nr. 19.) — Aschoff, Bemerkungen zur pathologischen Anatomie der Cholelithiasis und Cholecystitis. (Verhandl. d. Deutsch. Path. Gesellsch. 9. Tagung. 1909.) — Aschoff u. Bacmeister, Die Cholelithiasis. Jena 1909. —



Bindseil, Bakteriologische Sektionsbefunde bei einem chronischen Bazillenträger. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 74. 1913. S. 369.) — Blackstein und Welch, John Hopk. Hosp. Bull. Juni 1899. — Blumenthal, Ueber das Vorkommen von Typhus- und Paratyphusbazillen bei Erkrankungen der Gallenwege. (München. med. Wochenschr. 1904. S. 1641; Med. Klin. Nr. 48.) — Böttcher, Verbreitung und Bekämpfung des Typhus in Irrenanstalten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67.) — Chiari, Ueber das Vorkommen der Typhusbazillen in der Gallenblase bei Typhus abdominalis. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. 15. 1894.) — Chiarolanza, Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Typhusbazillen zu der Gallenblase und den Gallenwegen. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 62. 1909. S. 11.) — Koenen, Demonstration. (Berlin. klin. Wochenschr. 1912. S. 573.) — Chiari, Ueber Typhus abdominalis und Paratyphus in ihren Beziehungen zu den Gallenwegen. (Verh. d. Deutsch. Path. Ges. 1907. 11. Tagung.) — Ders., Ueber Cholecystitis typhosa. (Prag. med. Wochenschrift. 1893. Nr. 22.) — Cushing, Observations on the origin of gallbladder infections and upon the experimental formations of gall stones. (John Hopk. Hosp. Bull. 1899.) — Daehler, Exstirpation der Gallenblase bei Typhusträgern. (Sitzungsbericht d. ärztl. Vereins Münch. Bd. 20. 1910. S. 131.) — Dehler, Zur Behandlung der Typhusbazillenträger. (München. med. Wochenschr. 1907. Nr. 16, 43; 1912. Nr. 14 bis 16.) — Dörr, Cholecystitis typhosa. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. S. 885.) — Ders., Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern der Typhusbazillen in der Gallenblase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 39. 1905. S. 624.) — Droba, Der Zusammenhang zwischen Typhusinfektion und Cholelithiasis auf Grund eines in der Klinik operierten Falles. (Wien. klin. Wochenschr. 1899. S. 1141.) — Emmerich u. Wagner, Ueber experimentelle typhöse Cholecystitis. (Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. 1916. Nr. 27.) — Forster, Ueber die Beziehung des Typhus und des Paratyphus zu den Gallenwegen. (München. med. Wochenschr. 1908. S. 1.) — Forster u. Kayser, Ueber das Vorkommen von Typhusbazillen in der Galle von Typhuskranken und Typhusbazillenträgern. (München. med. Wochenschr. 1905. S. 1473.) — Friedel, Zur Kasuistik der Typhusträger. (Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1907. Nr. 6.) — Fromme, Zur Frage der chirurgischen Behandlung von Typhusbazillenträgern. (Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 107. 1911. S. 578.) — Frosch, Die Verbreitung des Typhus durch sogenannte Dauerausscheider und Bazillenträger. (Klin. Jahrb. Bd. 19. S. 537.) — Gilbert et Girode, Cholecystite typhique purulente. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1893. Nr. 35.) — Gilbert et Dominici, Angiocholite et cholecystite typhique expérim. (Ebenda. 1893.) — Gilbert et Fournier, Lithiase biliaire expérimentale. (Ebenda. 1897.) — Gaehdgens, Pathologie des Abdominaltyphus. (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse. 1915. 18.) — Goebel, Bericht über das Sektionsergebnis bei zwei chronischen Typhusbazillenträgern. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 78. 1914. S. 555.) — Grimme, Ueber die Typhusbazillenträger in den Irrenanstalten. (München. med. Wochenschr. 1908. S. 16.) — Ders., Ein unter dem Bilde der Weilschen Krankheit verlaufender Fall von Typhus abdominalis, entstanden durch Autoinfektionen der Gallenblase. (München. med. Wochenschr. 1908. Nr. 37.) — Günther u. Böttcher, Der Typhus in den Königl. Sächs. Landesanstalten zu Hubertusburg und seine Bekämpfung. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 68. 1911.) — Hammond, Journ. of Amer. med. Assoc. Vol. 52. 1909. p. 48. — Hilgermann, Ueber Bazillenträger beim Typhus. (Klin. Jahrb. Bd. 19. S. 463.) — Hirsch, Erkrankungen der Leber und Gallenwege beim Typhus. (Verh. d. Deutsch. Path. Gesellsch. 1907. 11. Tagung.) — Italia, Sulla genesi dei calcoli biliari. (Policlinico. 1901.) — Ders., I batterie delle calculosi biliari coltivati nelle bile. (Rif. med. 1901.) — Kamm, Gefährdung des Typhusbazillenträgers durch die eigenen Typhusbazillen. (München. med. Wochenschr. 1909. S. 1011.) — Koch, Ueber Beziehungen der Staphylokokken und Streptokokken zu den Gallenwegen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 60. 1908.) — Ders., Typhusbazillen und Gallenblase. (Ebenda. Bd. 62. 1909. S. 1.) — Küster u. Günzler, Zur Behandlung von Typhusbazillenausscheidern. (Ebenda. Bd. 81. 1916.) — Kurpjuweit, Ueber Typhusbazillenträger und ihre operative Heilung. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1913. Nr. 12.) — Laubenheimer, Zur Aetiologie der Cholecystitis. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 58. 1907. S. 64.) — Lentz, Ueber chronische Typhusbazillenträger. (Klin. Jahrb. Bd. 14. 1905. S. 475.) — Levy u. Kayser, Bakteriologischer Befund bei der Autopsie eines Typhusbazillenträgers. (München. med. Wochenschr. 1906. S. 2434.) — Loele, Typhusbazillenträger und Cholezystektomie. (Deutsch. med. Wochenschr. 1909. S. 1429.) — Mayer, Typhus, Paratyphus und deren Bekämpfung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 53. 1910. S. 234.) — Messerschmidt, Bakteriologischer und histologischer Sektionsbefund bei chronischen Typhusbazillenträgern. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. 75. 1913. S. 411.) — Mignot, L'origine microbienne des calculs biliaires. (Arch. gén. de méd. 1898.) — Müller, Epidemiologische und bakteriologische

Beobachtungen bei Typhuserkrankungen in Irrenanstalten: (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. 74. 1913. S. 138.) — Nietzer, Ueber das Vorkommen und die Bedeutung von Typhusbazillenträgern in Irrenanstalten. (München. med. Wochenschr. 1907. No. 33.) — Nietzer u. Liefmann, Ueber bemerkenswerte Befunde bei Untersuchungen auf das Vorhandensein von Typhusbazillenträgern in einer Irrenanstalt. (Ebenda. 1906. S. 1611.) — Pribram, Ueber Cholecystitis und Dauerausscheider und den heutigen Stand der Therapie. (Wien. klin. Wochenschr. 1912. S. 1344.) — Prigge, Bazillenträger und Dauerausscheider. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 41. 1912. S. 276.) — Reisinger, Chirurgische Therapie bei einer Typhusbazillenträgerin. (München. med. Wochenschr. 1914. S. 48.) — Richardson, On the role of bacteria in formations of gall stones. (Journ. of the Boston. Soc. of med. sciences. 1899.) — Roscoe, The Lancet. 1909. Vol. 2. p. 1137. — Schebrow, Cholecystitis bei Typhus abdominalis. Inaug.-Diss. St. Petersburg. 1899. (Russisch.) — Schumacher, Zur Frage der Bazillenträger und ihrer Beziehung zum endemischen Typhus. (Klin. Jahrb. Bd. 22. 1909.) — Simon, Ueber Cholecystitis typhosa als Ursache chronischer Typhusbazillenausscheidung. (Ebenda. Bd. 17. 1907.) — Venema, Zum experimentellen Studium der Typhusbazillenträger. (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 815.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein Fall von spontaner Froschtuberkulose.

[Aus dem Physiologischen Institut der Universität Berlin (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner).]

Von Dr. Stefanie Lichtenstein.

Gelegentlich einer Reihe von Versuchen mit Fröschen fiel mir an der Leber eines der seziierten Tiere eine gelblich aussehende, gegen das übrige Gewebe nicht scharf umrissene Stelle auf, im Innern mit einer rahmigen Masse gefüllt. Das Ausstrichpräparat zeigte massenhaft gut gefärbte, säurefeste Stäbchen, mit den morphologischen und tinktoriellen Eigenschaften der Tuberkelbazillen. In den übrigen Organen waren keine Veränderungen zu sehen, auch ließen sich in den von diesen angefertigten Ausstrichpräparaten keine Bazillen nachweisen. Mit dem Material aus dem säurefeste Stäbchen enthaltenden Herde der Leber wurden Glycerinbouillonröhrchen geimpft, und es gelang, bei Zimmertemperatur eine Reinkultur der Bazillen zu gewinnen. Bereits nach 3–4 Tagen war ein Wachstum makroskopisch sichtbar. Die Bouillon bleibt klar; an der Oberfläche entwickelt sich ein weißes, trockenes Häutchen von brüchiger Beschaffenheit. Mit zunehmender Ausdehnung klettert die Haut die Wand des Röhrchens empor, wird dick und faltig und sinkt in einzelnen Fetzen zu Boden, — ein Wachstum, wie wir es beim humanen Typus der Tuberkelbazillen kennen. Auf Glycerinagar (Glyzerinzusatz ist für ein schnelles, ausgiebiges Wachstum der Kultur erforderlich, dagegen spielt in dieser Hinsicht Traubenzuckerzusatz keine wesentliche Rolle) wachsen die Stäbchen in weißen, prominenten Kolonien, die leicht konfluieren, so daß der ganze Belag ein zerklüftetes, zum Teil schmieriges Aussehen annimmt. Auf Loeffler-Serum zeigt die Kultur keine wesentlichen Unterschiede. Was das morphologische Verhalten dieser Bakterien betrifft, so zeigen sie keine charakteristischen Unterschiede von den menschlichen Tuberkelbazillen; allerdings schienen sie mir zum Teil kleiner als jene zu sein.

Mit den Reinkulturen wurden Frösche geimpft. Je nach der Menge, die für die Infektion (intraperitoneal) gebraucht wurde, gingen die Tiere in 3–8 Wochen ein. Nur kurz vor dem Tode machten sie einen schwerkranken Eindruck; während der ganzen Zeit merkte man ihnen die Er-

krankung nicht an. Während bei der Spontanerkrankung nur die Leber befallen war, ergab die Sektion der geimpften Frösche eine Miliartuberkulose, wie sie uns bei mit menschlichen Tuberkelbazillen geimpften Meerschweinchen entgegentritt. Sämtliche Organe waren von verschiedenen großen, grauen, stellenweise konfluierenden, gegen das übrige Gewebe gut abgegrenzten Knoten durchsetzt. Nur in der Lunge waren sie ganz vereinzelt vorhanden. In einzelnen Fällen waren die Lungen sogar ganz frei von tuberkulösen Veränderungen. Das Mesenterium war dicht mit Knoten besetzt, sogar im Fettkörper waren welche vorhanden. In den Ausstrichpräparaten der betreffenden Herde waren die säurefesten Stäbchen in unzähligen Mengen vorhanden; sie lagen in ganzen Haufen, so daß manche Stellen wie vollgepfropft waren. Sie waren auch im Blute sehr zahlreich; es fiel auch eine deutlich ausgesprochene Phagozytose auf. Wurden Frösche statt mit Reinkultur mit dem tuberkelhaltigen Material der eingegangenen Tiere geimpft, so gewann man dasselbe Krankheitsbild. Die Reinkulturen, die wiederum aus den kranken Organen gezüchtet wurden, zeigten dasselbe Aussehen und Verhalten wie die aus der Leber des spontan erkrankten Frosches isolierten Kulturen.

Außer den Fröschen wurden noch Molche (*Molge cristata*) geimpft. Bei ihnen war der Verlauf der Infektion ein viel langsamerer als bei den Fröschen; die Tiere gingen erst nach 12 Wochen ein. Nur in der Leber waren ganz vereinzelt, winzige, graue Knötchen zu sehen; die übrigen Organe blieben intakt.

Ueber Froschtuberkelbazillen finden sich in der Literatur Angaben von Weber und Taute<sup>1)</sup>. Es gelang ihnen aus 6 Fröschen säurefeste Stäbchen heranzuzüchten und zwar 3mal aus dem ersten Frosch, 2mal aus dem zweiten Passagefrosch (durch Verimpfung der Leber des ersten Frosches) und 1mal aus dem dritten Passagefrosch. In 5 Fällen waren es Kaltblütertuberkelbazillen.

Ueber Spontan tuberkulose bei Fröschen hat ferner Küster<sup>2)</sup> berichtet. Er untersuchte 200 Frösche auf das natürliche Vorkommen von säurefesten Stäbchen und fand 3mal eine tuberkulöse Erkrankung, welche in makroskopischen Veränderungen der Leber sich äußerte: multiple bis erbsengroße, gegen das übrige Gewebe gut abgegrenzte Knoten von schmierigem, weiß-gelbem Inhalt. In den Ausstrichen waren zahlreiche säurefeste Stäbchen vorhanden. In einem weiteren Falle erhielten die Leberausstriche dieselben Bazillen in großen Mengen, ohne daß makroskopisch eine Veränderung festzustellen war. — Außer dem spontan erkrankten Frosche habe ich noch 140 nachträglich untersucht und bei diesen kein einziges Mal eine tuberkulöse Veränderung der Organe wahrnehmen können. Ebenso waren in den Ausstrichpräparaten von den Organen keine säurefesten Bakterien zu konstatieren. Auch Küster konnte aus den tuberkulösen Herden der spontan erkrankten Frösche die säurefesten Stäbchen in Reinkultur bei Zimmertemperatur züchten und gesunde Frösche mit ihnen infizieren. Küster gibt als Wachstumsoptimum seiner Kulturen 25—28° C an. Es gelang ihm auf keine Weise, die Bazillen an eine Temperatur von 37° C zu gewöhnen. — Ich versuchte, den Stamm, den ich aus der Leber des spontan erkrankten Frosches isoliert hatte, durch allmähliche vorsichtige Veränderung der Brutschranktemperatur an höhere Temperaturen anzupassen. Nach vielen Versuchen,

1) Weber u. Taute, Tuberkul.-Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1905. H. 3.

2) E. Küster, Münchener med. Wochenschr. 1905. No. 2.

die wochenlang dauerten, ist es mir schließlich gelungen, den Stamm bei 37° C zu züchten. Während die ersten, bei 37° C gehaltenen Kulturen nur langsam angingen und dürrig wuchsen, zeigten die weiteren Generationen ein schnelles, üppiges Wachstum. Das Aussehen der bei 37° C gezüchteten Kulturen verändert sich insofern, als auf Glyzerinagar der Belag nicht mehr schmierig ist, wie bei niedrigeren Temperaturen, und läßt sich glatt und trocken vom Agar abheben. Das Ganze ist stark zerklüftet, stellenweise mit schuppigen, warzigen Prominenzen und Schollen. Die Kulturen sahen derjenigen der menschlichen Tuberkelbazillen ähnlich aus. Das gleiche gilt von den Glyzerinbouillonkulturen. Die Glyzerinagarkulturen zeigten stellenweise Farbstoffbildung. Bei längerem Stehen verfärbten sie sich gelblich, rötlich bis lilafarben. Bei den Kulturen fiel der für Tuberkelbazillenkulturen charakteristische, aromatische Geruch auf. Noch bei 38° C hörte das Wachstum nicht vollständig auf; bei höheren Temperaturen, bis 40° C, trat zwar Hemmung des Wachstums ein, jedoch konnten die Kulturen nach mehrtägigem Aufenthalt bei dieser Temperatur noch mit Erfolg übergeimpft werden. Die gefärbten Präparate zeigten die Stäbchen, die von menschlichen Tuberkelbazillen nicht zu unterscheiden waren; sie schienen zum Teil größer als die bei niedrigeren Temperaturen gezüchteten zu sein.

Ueber die Anpassungsmöglichkeit der Kaltblütertuberkelbazillen an höhere Temperaturen liegen in der Literatur die Mitteilung von Dubard<sup>1)</sup> und von Aujeszky<sup>2)</sup> vor, denen es gelang, den Fischtuberkelbazillus Dubard auch bei 37° C zu züchten. Während Dubard bei dieser Temperatur nur ein sehr langsames Wachstum feststellen konnte, will Aujeszky in der 5. Generation bei 37° C eine sehr starke Entwicklung erzielt haben. Ferner wachsen die von Friedmann aus Fällen von Schildkrötentuberkulose gezüchteten säurefesten Bazillen auch noch bei 37° C, — zwar deutlich verlangsamt.

Da der Stamm, den ich gezüchtet hatte, sich durch sein kulturelles Verhalten und ganz besonders durch sein Wachstumsvermögen bei 37° C von den aus der Literatur bekannten Froschtuberkelbazillen abweichend verhielt, so lag es nahe, ihn im Tierversuch bei Warmblütern zu prüfen. Von den Tieren kamen Mäuse und Meerschweinchen in Betracht — auf Kaninchen mußte aus äußeren Gründen verzichtet werden, wie überhaupt die Tierversuche nicht in großem Maßstabe durchgeführt werden konnten. Für Mäuse und Meerschweinchen war unser Stamm der Froschtuberkelbazillen nicht pathogen. Wurden größere Dosen für die Injektion gebraucht, so trat bei den Meerschweinchen eine deutliche Vergrößerung der Inguinaldrüsen ein, die sich aber nachträglich zurückbildete. Meerschweinchen, die mit den Froschtuberkelbazillen geimpft worden waren, wurden nachträglich in verschiedenen Zeitabständen mit tuberkulösem Sputum geimpft. Gegenüber den Kontrolltieren ließ sich zwar eine deutliche Verzögerung im Verlauf des ganzen Krankheitsprozesses feststellen; — ich möchte aber dieser Tatsache eine besonders große Bedeutung nicht beimessen, da die Kontrolltiere nicht so zahlreich waren, wie sie eigentlich für solche Versuche hätten sein müssen. Zumal bei Tuberkulose muß man mit der Beurteilung einer Verzögerung des Krankheitsprozesses ganz vorsichtig sein. Wer viel mit Tuberkulose experimentiert, weiß, wie individuell verschieden die Tiere hinsichtlich

1) Dubard, Rev. de la tub. 1898.

2) Aujeszky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 42. 1906. H. 9.

der Dauer der Krankheit sind. Andererseits wurden tuberkulöse Meerschweinchen mit den Froschtuberkelbazillen nachbehandelt. Darüber hinaus wurden gesunde Meerschweinchen gleichzeitig mit den Froschtuberkelbazillen und mit tuberkelbacillenhaltigem Sputum geimpft, oder kurz vor der Infektion mit Sputum mit den Froschtuberkelbazillen gespritzt; in einer weiteren Versuchsreihe wurden die Tiere kurz nach der Infektion mit Sputum mit den Froschtuberkelbazillen geimpft. Bei diesen verschiedenen Versuchsvariationen kam es im Vergleich zu den Kontrolltieren in keinem einzigen Falle zu einem Ergebnis, das man mit vollem Recht als eine wirklich anhaltende günstige Beeinflussung des Tuberkuloseprozesses hätte ansehen können.

Noch ein Umstand mag erwähnt werden: Bei der genauen Untersuchung der mit den betrachteten Froschtuberkelbazillen geimpften und eingegangenen Frösche ergaben sich Anhaltspunkte dafür, daß es eine lohnende Aufgabe sein dürfte, an diesem Tiermaterial die Frage der hereditären Uebertragung der Tuberkulose näher zu verfolgen. Ich behalte mir vor, auf diesen Gegenstand noch zurückzukommen.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der atypischen *Lyssa humana*.

[Aus der Wutschutzabteilung des Hygienischen Institutes der Universität Breslau (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von Dr. Herbert Lubinski, Leiter der Abteilung.

Die im Verlauf der Lyssaschutzimpfung zuweilen auftretenden Störungen des Nervensystems stehen wegen ihrer bisher nicht restlos geklärten Aetiologie noch immer im Vordergrund des Interesses. Die Seltenheit des Vorkommens sowie die Wichtigkeit der Frage für die Bedeutung der Pasteurschen Schutzimpfung lassen es berechtigt erscheinen, jeden derartigen Fall zu veröffentlichen.

Ueber die bis 1912 in der Literatur bekannt gewordenen Impfstörungen hat Simon zusammenfassend berichtet. Seine Arbeit umfaßt 84 Fälle, von denen 19 tödlich verliefen. Damit dürfte aber die Zahl der tatsächlich vorgekommenen nicht erschöpft sein, da wahrscheinlich ein beträchtlicher Teil der Lähmungen einesteils infolge mangelhafter Ueberwachung der aus der Behandlung entlassenen Patienten, andererseits infolge zu geringfügiger Krankheitserscheinungen nicht zur Kenntnis der Öffentlichkeit gelangt.

Forschbach hat diese Zusammenstellung bis zum Ende des Jahres 1917 fortgeführt und berichtet von 19 Fällen, darunter 5 tödlich verlaufenen. Von den insgesamt 103 Fällen betrafen 40 = 38,8 Proz. aufsteigende und 63 = 61,2 Proz. schlaife Lähmungen. Während die Prognose dieser letzteren im allgemeinen günstig ist, ist die der ersteren sehr ernst. Von den beschriebenen 40 aufsteigenden Paralyesen endeten 19, d. h. fast die Hälfte, letal.

In Breslau sind seit dem Bestehen der Station (1906) 5 Fälle ernstlicherer Störungen beschrieben worden: 2 im Jahre 1907, die nach kurzer Dauer in Heilung übergingen, und 3 im Jahre 1917, von denen einer (Paralysis ascendens) mit dem Tode endete.

Was nun die Aetiologie angeht, so stehen sich die Ansicht Josef

Kochs, daß es sich um eine infolge der Schutzimpfung abortiv verlaufende echte *Lyssa* handelt, und die von Babes gegenüber, der meint, daß die Erscheinungen als eine schädigende Wirkung des *Virus fixe*, und zwar der von ihm sezernierten Toxine, aufzufassen sind.

Zum Beweise seiner Ansicht führt Koch folgendes an:

Nitsch und Proescher haben frisches Passage-Rückenmark in großer Menge intramuskulär verimpft, ohne irgendwelche schädlichen Folgen für die davon Betroffenen zu sehen. Um so unwahrscheinlicher erscheint Koch die Uebertragung einer Impflyssa infolge des durch wenigstens einen Tag langes Trocknen geschwächten Rückenmarkes. Wenn aber diese Möglichkeit doch vorhanden wäre, so müßten nach seiner Ansicht bei der ungeheuren Zahl der schon gemachten Injektionen derartige Lähmungen viel häufiger sein. Wenn nun, so folgert Koch, der unveränderte Erreger selbst nicht die geringsten Krankheitserscheinungen hervorruft, so dürften sicherlich auch nicht die in ihrer Existenz von ihm zwar zugegebenen, aber schwachen Toxine eines derartig für den Menschen avirulenten Virus imstande sein, ein so wohl charakterisiertes Krankheitsbild zu verursachen. So bleibt für ihn als letzte Möglichkeit, einer Erklärung nur noch die Annahme übrig, daß die Lähmungen eine leichtere Form der echten *Lyssa* darstellen. Die Kette des Beweises glaubt er, durch einen Versuch geschlossen zu haben, den er mit dem Lendenmark eines an einer Landryschen Paralyse verstorbenen Patienten angestellt hat und von dem später noch zu reden sein wird.

Demgegenüber stützt Babes seine Anschauung auf folgende Beobachtung:

1) Die von ihm gesehenen Paralyzen nach Schutzimpfung traten etwa 2 Wochen nach Beginn der Impfungen auf, während die Inkubation der echten *Lyssa*, namentlich bei leichten Verletzungen, mindestens einen Monat beträgt.

2) In allen von ihm untersuchten Fällen von klinisch echter Hundswut beim Menschen fielen sämtliche Tierexperimente und fast alle histologischen Untersuchungen positiv aus. Hingegen konnte bei den 3 an aufsteigender Lähmung zugrunde gegangenen Pat. seiner Abteilung weder pathologisch-anatomisch noch experimentell ein Ergebnis erzielt werden.

3) Da diese Lähmungen bisher nur bei solchen gebissenen Personen beobachtet worden sind, die sich einer Schutzimpfung unterzogen haben, sieht er in dieser bzw. den vom *Virus fixe* sezernierten Toxinen auch ihre eigentliche Ursache.

Die Richtigkeit der einen oder der anderen Ansicht ist jedoch mit diesen theoretischen Ueberlegungen und Rückschlüssen noch nicht erwiesen. Klarheit kann hier nur, nachdem die pathologisch-anatomischen Untersuchungen im großen und ganzen ergebnislos verlaufen sind, der Tierversuch bringen. Wenn es gelingt, durch die Uebertragung infektiösen Materials beim Kaninchen in mehreren Passagen eine typische Erkrankung hervorzurufen, dann kann man aus der Dauer der Inkubation und der Anwesenheit Negrischer oder Lentzscher Körperchen Schlüsse auf die Ursache der Impfschädigung ziehen.

Versuche dieser Art sind bisher nur sehr vereinzelt gemacht worden, so von Berger in einem und von Babes in vier Fällen. Alle verliefen resultatlos: die Tiere blieben gesund.

Dagegen gelang es Barreggi, mit dem Hirn und Rückenmark an Lähmung Verstorbener Kaninchen zu infizieren, die bereits am 5.—6. Tage unter den Zeichen der paralytischen Wut erkrankten. Weitere Passagen wurden nicht gemacht.

Ferner hat J. Koch mit einer Emulsion von Lendenmark eines Pat., der an Paralysis ascendens gestorben war, Ratten und Kaninchen geimpft. Während die letzteren an Sepsis zugrunde gingen, gelang ihm über die Ratten die Uebertragung eines Virus durch eine große Anzahl von Kaninchenpassagen. Allerdings erkrankten die geimpften Tiere so atypisch, daß eine Entscheidung schwierig ist. Bei zweien von der großen Zahl geimpfter Kaninchen hat er Negrische Körperchen im Ammonshorn gefunden „in Form und Größe, wie sie bei Passagewut vorzukommen pflegen“. Sollte es sich hier vielleicht um Lentzsche Passagewutkörperchen handeln? Dieser Befund spricht meiner Ansicht nach eher für *Virus fixe* als für die von Koch behauptete Straßengewut-Infektion.

Den erfolgreichsten Versuch machte Kozewalow. Es gelang ihm, das Virus eines an Paralysis ascendens zu Tode gekommenen Pat. auf 33 Kaninchen zu übertragen, von denen 24 nach 6—7 Tagen an Wut erkrankten. In 2 Serien gelang die Ueber-

tragung durch 3, und in einer Serie durch 2 Passagen. Negrische Körperchen konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Versuche von Barreggi und Kozewalow lassen aus den oben über die Inkubationsdauer angeführten Gründen annehmen, daß es sich in ihren Fällen um eine Infektion mit Virus fixe gehandelt hat. Außerdem aber ist die Uebertragung durch mehrere Passagen hindurch ein Beweis gegen die von Babes angenommenen Wuttoxine, da eine Uebertragung wirksamer Toxinmengen, die sich doch nicht vermehren können, durch mehrere Passagen hindurch infolge der starken Verdünnung nicht möglich sein dürfte.

### Eigene Beobachtung.

Wir hatten Gelegenheit, einen tödlich verlaufenden Fall einer solchen während der Behandlung auftretenden Landry'schen Paralyse mit einwandfreien Ergebnissen zu untersuchen:

Der Knabe Alfred T., 13 Jahre alt, wurde in seinem Heimatdorfe Dreißighuben in Schlesien am 4. April 1920 von einem Hunde in die linke Hälfte der oberen Nase gebissen. Das Tier hat laut Mitteilung des Kristierarztes außerdem noch mehrere Hunde und auch Menschen gebissen. T. war der erste im Dorf, der angefallen wurde. Die Sektion des später erschlagenen Hundes hatte folgendes Ergebnis:

Magen ziemlich angefüllt mit einem zusammenhängenden Conglomerat von unverdaulichen Stoffen, die fast nur aus Haaren bestehen; diese finden sich auch im Darne. Der sonstige Befund o. B.

Die Untersuchung des Gehirns auf der Wutschutzabteilung ergab reichlich Negrische Körperchen in einem Ausstrichpräparate des Ammonshornes.

4 Tage nach dem Biß, am 8. April, wurde T. auf der Station aufgenommen. Zu diesem Zeitpunkte waren noch Spuren von 6 Zähnen zu sehen. Im übrigen zeigten die Wunden keinerlei Besonderheiten; sie waren in wenigen Tagen reaktionslos verheilt.

Die Behandlung erfolgte nach dem modifizierten Pasteurschen Verfahren: täglich 2 ccm einer Verreibung von 1 cm getrockneten Rückenmarkes in 5 ccm physiol. Kochsalzlösung. Die Trocknungsdauer des verwendeten Markes betrug am 1. Behandlungstage 3 Tage und ging dann nach dem Schema 3.2.1.1. 3.2.1.1. weiter. Im ganzen sollte T. 42 Einspritzungen erhalten, da wir wegen des besonders gefährlichen Sitzes der Verletzung (Gesicht) eine 6-wöchentliche Behandlungsdauer für angebracht hielten. Bis zum 30. April, d. h. dem 23. Behandlungstage, 26 Tage nach dem Biß, wurden die Einspritzungen reaktionslos getragen. Auch die in der 2. Woche gewöhnlich auftretenden allergischen Erscheinungen gingen keineswegs über das gewöhnliche Maß hinaus.

An dem genannten Tage, dem 30. April, klagte Pat. über Magenbeschwerden und Brechreiz. Da er eine leicht belegte Zunge aufwies, wurden die Beschwerden auf einen Magenkatarrh zurückgeführt und die Impfung fortgesetzt. Am nächsten Tage konnte Pat. das Bett nicht mehr verlassen. Stehen und Gehen waren durch Schwindelanfälle erschwert. Flüssigkeiten wurden nur mit Widerstreben genommen, da der Schluckakt schmerzhaft war. Die Untersuchung ergab eine Temperaturerhöhung auf 38,9° und eine entzündliche Rötung und Schwellung der Tonsillen, insbesondere der linken, die auch einen weißlich-gelben Belag aufwies. Die Impfungen wurden zunächst unterbrochen und Pat. der medizinischen Universitätsklinik überwiesen.

Auszug aus dem von der Klinik freundlichst zur Verfügung gestellten Krankenbericht:

3. Mai. Es bestehen leichte Halsschmerzen. Die Diagnose eines zugezogenen Otologen lautet auf chronische abgesackte Angina, durch welche die Krankheitserscheinungen voll und ganz erklärt werden. Keine Hydrophobie, keine Schluckkrämpfe.

4. Mai. Bei Eröffnung des Abszesses findet sich dicker, krümeliger Eiter. Nahrungsaufnahme gut. Die Impfungen werden wieder aufgenommen.

5. Mai. Abermaliger Temperaturanstieg auf 38,9°. Der Gang, der seit dem 2. Mai wieder normal war, ist heute abermals schwankend und unsicher.

6. Mai. Parese der unteren Extremitäten, an der die Haut- und Sehnenreflexe erloschen sind. Beim Gehen knickt Pat. dauernd ein. Auch das Aufsetzen im Bett erfolgt nur langsam und mühsam. Temperatur 40,2°. Kein innerer Befund. Sensorium frei. Die Impfungen werden eingestellt.

7. Mai. Gehen unmöglich, fast völlige Parese der Beine, auch die Arme werden nur noch langsam bewegt. Temperatur früh 40°. Puls 124.

8. Mai. Lähmung der Arme; motorische Unruhe der Hände und Finger. Die Sprache ist nicht mehr verständlich. Salivation. Keine Hydrophobie. Unfreiwilliger Abgang von Stuhl und Urin in geringen Mengen.

9. Mai. Pat. ist völlig desorientiert. Lähmung der Blase und des Darmes (starker Trommelbauch). Keine Schluckkrämpfe. In der Nacht erfolgt der Tod an Herzschwäche.

#### Die Sektion (Prof. Dr. Hanser) ergab folgenden Befund:

Dem Alter entsprechend entwickelte Leiche eines Kindes. Zeichen irgendwelcher Verletzung nicht mehr nachweisbar. Mäßige Hyperplasie des Zungengrundes, der Drüsen und Tonsillen. Aspiration von Magenschleim (gallig) im Rachen und in den Bronchien. Sonst Brustorgane o. B.

Gehirn und Rückenmark werden im Zusammenhang herausgenommen. Weiche Hirnhäute zart durchscheinend. Sonst makroskopisch keine krankhaften Veränderungen. Nur in der Höhe des 3.—5. Zervikalsegmentes fällt auf, daß die Vorderhörner beiderseits hyperämisch sind, vielleicht hämorrhagisch.

Milz etwas weich, deutliche Follikel. Deutliche Darmfollikel. Sonstige Bauchorgane o. B.

Bei der nach den gewöhnlichen Methoden erfolgten mikroskopischen Untersuchung zahlreicher Fälle des Gehirns und Rückenmarkes war nichts von der Norm Abweichendes zu finden.

Die auf der Wutschutzabteilung vorgenommene Untersuchung des Zentralnervensystems des Pat. hatte folgendes Ergebnis:

1) Negrische Körperchen ließen sich in den angefertigten Ausstrich- und Schnittpräparaten des Ammonshornes, der Medulla, des Hals- und Lendenmarkes nicht nachweisen.

2) Tierversuche: Mit verschiedenen Teilen des Zentralnervensystems konnte *Lyssa* einwandfrei auf Kaninchen übertragen werden:

#### Versuch A: Emulsion von Lendenmark des Patienten:

<p>Kaninchen 82 0,1 ccm subdural. † nach 28 Tagen. Negri +</p>	<p>Kaninchen 81 2 ccm intramuskulär; lebt nach 4 Monaten.</p>
<p>Kaninchen 99 0,1 ccm subdural. † nach 18 Tagen. Negri —</p>	
<p>Kaninchen 111 0,1 ccm subdural. † nach 15 Tagen. Negri +</p>	

#### Versuch B: Emulsion von Halsmark des Patienten:

Kaninchen 80  
0,1 ccm subdural. † nach 26 Tagen. Negri +

#### Versuch C: Emulsion vom verlängerten Mark des Patienten:

Kaninchen 79  
2 ccm intramuskulär; lebt nach 4 Monaten.



## Versuch D: Emulsion vom Ammonshorn des Patienten:

Kaninchen 77 0,1 ccm subdural. † nach 28 Tagen. Negri +	Kaninchen 78 2 ccm intramuskulär; lebt nach 4 Monaten.
---	--

## Versuch E: Zerebrospinalflüssigkeit (1 Tag vor dem Tod entnommen)

Kaninchen 76 2 ccm intramuskulär; lebt nach 4 Monaten.
---

Durch vorliegende Versuche ist für diesen Fall die Diagnose gesichert. Nach dem klinischen Verlaufe hatte der Verdacht bestanden, daß die Erkrankung infolge der Impfung aufgetreten, eine Infektion mit Passagewut sein könnte. Dies ist aber durch unsere Versuche mit Sicherheit widerlegt.

Die Inkubation bei subduraler Impfung der Kaninchen war in der 1. Passage etwa 4 Wochen und ging in der 2. und 3. Passage auf 16 bzw. 15 Tage zurück. Die ursprünglich recht lange Inkubation weist darauf hin, daß in dem verimpften Material (aus den verschiedensten Teilen des Zentralnervensystems) nur sehr wenig Wuterreger vorhanden waren. In gleichem Sinne ist auch das negative Resultat der 3 intramuskulären Verimpfungen zu deuten. In den folgenden Passagen blieb die Inkubation 16 bzw. 15 Tage, d. i. die für Straßenwut normale Zeit, während bei mit Virus fixe infizierten Kaninchen die Inkubation 5-8 Tage nicht zu übersteigen pflegt.

Der regelmäßige Befund typischer Negrischer Körperchen und das Fehlen der Lentzschen Passagewutkörperchen erhärten noch dieses Ergebnis.

Demnach ist hier zum ersten Male einwandsfrei bewiesen:

Bei einem von einem tollen Hund verletzten Menschen tritt in der 4. Woche der Schutzimpfung eine aufsteigende Paralyse auf, die durch Straßenwut bedingt ist. Die Schutzimpfung allein kann demnach das Zustandekommen der Erkrankung nicht verursacht haben.

Die Tatsache, daß auch ein so abnormer Verlauf der Erkrankung durch den gleichen Erreger bedingt sein kann wie die echte Lyssa, findet ihr Analogon in dem Vorkommen ganz verschiedener Krankheitsformen bei Tieren, z. B. der stillen, paralytischen und der rasenden Wut der Hunde, die beide durch den gleichen Erreger bedingt sind. Eine Erklärung für diese Verschiedenheit zu finden, ist schwer. Wahrscheinlich hängt sie nicht mit Unterschieden des Virus, sondern des Infizierten oder des Infektionsweges zusammen. Da aber beim Menschen solche Krankheitsbilder — soweit mir bekannt — nur bei solchen Lyssainfizierten Personen beobachtet wurden, die Schutzgeimpft worden sind, liegt es auf der Hand, anzunehmen, daß in solchen Fällen die Impfung eine gewisse abschwächende Wirkung auf die ursprüngliche Straßenwutinfektion ausgeübt hat. Für einen Teil der Fälle wenigstens, sicher für den vorliegenden, scheint also die Auffassung von J. Koch zu Recht zu bestehen, daß die Impfung einen teilweisen Schutz ausgeübt hat, so daß infolge der Schutzimpfung die ursprüngliche Lyssainfektion abortiv geworden ist.

Ob freilich alle Fälle von Paraplegien und aufsteigenden Paralysen sich durch diese Auffassung restlos erklären lassen, muß bezweifelt werden, da gelegentlich solche Zwischentälle auch bei Personen vorgekommen sind, die ohne vorhergehende Straßenwutinfektion nur prophylaktisch geimpft worden sind. Ebenso spricht die Beobachtung von

Kozewalow dafür, daß wohl ähnliche Krankheitsbilder auch durch Virus fixe hervorgerufen werden können.

Durch diese Erwägungen wird aber die Bedeutung des hier beschriebenen Falles nicht beeinträchtigt. Denn durch ihn ist einwandfrei und lückenlos bewiesen worden, daß in einem Fall, der nach dem klinischen Bild höchst verdächtig auf Impfschädigung war, die Schutzimpfung keinerlei Schuld trägt. Die vorliegende Beobachtung dient also unbedingt dazu, das Vertrauen in die Pasteursche Schutzimpfung zu stärken.

#### Zusammenfassung.

1) Ein von einem tollwütigen Hunde verletzter Knabe erkrankt am 27. Tage nach dem Biß, am 24. Tage nach Beginn der Schutzimpfung, tödlich unter dem Bilde einer aszendierenden Paralyse.

2) Die pathologisch-anatomische Untersuchung ergibt makroskopisch und mikroskopisch keinerlei Befund.

3) Die Verimpfung verschiedener Teile des Zentralnervensystems auf Kaninchen führt bei den subdural infizierten nach etwa 4 Wochen zu einer typischen Erkrankung, die in 2 weiteren Kaninchenpassagen schon nach 15 bzw. 16 Tagen zu Tode führt. Mit einer Ausnahme konnten im Ammonshorn aller Tiere typische Negrische, aber keine Lenzschen Körperchen nachgewiesen werden.

4) Aus der Dauer der Inkubation und dem Vorhandensein der Negrischen Körperchen ergibt sich, daß die Erkrankung des Patienten T. auf einer Infektion mit echter Lyssa beruht.

5) Der atypische Verlauf der Erkrankung ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Schutzimpfung zurückzuführen.

#### Literaturangaben.

1) Högyes, Lyssa. Wien 1897. — 2) Babes, Bemerkungen über atypische Wut- anfälle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911.) — 3) Derselbe, In welchen Fällen ist man berechtigt usw. (Ebenda. Bd. 65. 1910.) — 4) Forschbach, Zur Klinik der Lyssa und Impflyssa. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 86. Heft 3 u. 4.) — 5) Koch, J., Zur Kenntnis atypischer Wutfälle. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 67. 1910.) — 6) Derselbe, Ueber die Entstehung der akuten Paraplegie nach Lyssainfektionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64.) — 7) Simon, Ueber Lähmungen im Verlaufe der Tollwutschutzimpfungen. (Ebenda. Bd. 68.)

*Nachdruck verboten.*

### Ein Fall von Balantidienerkrankung.

[Aus dem Landkrankenhaus Kassel.]

Von Prof. Dr. Rosenblath.

Die Balantidienerkrankung gilt allgemein und besonders auch in Deutschland als ein recht seltenes Leiden. Janowski (1) zählte 1897 unter 55 veröffentlichten Fällen 3 deutsche und nach der Statistik, die Ehrnrooth (2) 1903 aufstellte, stammten von 89 Fällen 9 aus Deutschland. Auch später flossen die Mitteilungen über die Krankheit nur spärlich, und wenn vor kurzem Brenner (3), der allerdings gleich 4 Fälle beobachten konnte, die Meinung ausspricht, sie sei häufiger, als man bisher annahm, so müßten schon besondere Umstände, die wir bisher

noch nicht recht übersehen, der Erkennung des Leidens im Wege stehen. Man kann sonst nicht sagen, daß diesen Arbeiten ein ungünstiger Stern geleuchtet hätte. Im Gegenteil war der 1. Mitteilung von Malmsten über den Gegenstand die weiteste Verbreitung durch den Umstand gesichert, daß sie 1863 Aufnahme in die 1. Auflage des bekannten Leuckartschen Buches über die Parasiten des Menschen fand. Auch ist es in Krankenhäusern doch wohl allgemein üblich, in dunklen, mit Durchfällen verlaufenden Fällen den Stuhl zu mikroskopieren, und wenn sich in den Entleerungen die beweglichen Infusorien finden, so genügt ja ein Blick in das Mikroskop, um auch einen Arzt, der, wie ich, nie einen einschlägigen Fall gesehen hat, sofort auf die richtige Fährte zu bringen. Da es aber zweifellos vorkommt, daß die Parasiten zeitweilig fehlen, ja daß sie auch nach der Sektion, obwohl Geschwüre im Dickdarm gefunden werden, in Schnitten durch die Darmwand vermißt werden können, wie der Fall Ehrnrooths zeigt, so wird man zweifellos bei ruhrartigen Erkrankungen der Untersuchung der Stühle mehr Aufmerksamkeit zuwenden müssen, als dies bisher wohl geschehen ist, und nicht auf Grund einer einmaligen Untersuchung die Balantidienerkrankung ausschließen dürfen.

Meine Beobachtung bezieht sich auf einen 70-jähr. Waldarbeiter, der niemals in seinem Leben über die nächste Umgebung seines Heimatsortes, eines einsamen Dorfes in der Nähe Kassels, hinausgekommen war. Auch in seiner Umgebung waren nach Mitteilung seines Arztes weitere verdächtige Darmerkrankungen nicht vorgekommen.

Pat. war stets gesund und seit August 1919 von Durchfällen geplagt, die seitdem nie ganz aufgehört haben. Schmerz hatte er nur gelegentlich bei Stuhl drang. Im letzten Monat magerte er stark ab, hatte wenig Appetit und viel Durst.

Die Untersuchung ergab große Magerkeit. Weder Oedeme noch Drüsenanschwellungen. Der Leib war eingesunken, an manchen Stellen ein wenig druckempfindlich. Leber und Milz war nicht vergrößert. Eine Geschwulst nicht tastbar. Der Kranke sah nicht eigentlich kachektisch aus. Doch dachte ich zunächst an Mastdarmkrebs. Indessen gab die Austastung des Mastdarms keinen Befund. Auch in einem Präparat, das einem nicht ganz durchgängigen, breiigen Stuhl entnommen war, fand ich nichts Besonderes. Ein weiterer ganz dünner Stuhl, der den Eindruck eines Fettstuhles machte, ließ dagegen zahlreiche, sehr lebhaft bewegliche, bewimperte Infusorien mit Kern, Vakuole und Peristom erkennen, deren Vergleich mit Abbildungen des Balantidium die Parasiten leicht zu klassifizieren erlaubte. Während der kurzen Krankheitsdauer blieb der Stuhl durchgängig. Der Leib zeigte hie und da in der linken Unterbauchgegend Auftreibungen mit leichter Peristaltik. Am 28. Nov. entwickelte sich eine Lungenentzündung, der Pat. am 1. Dez. erlag.

Die Sektion, an der teilzunehmen ich verhindert war, wurde von dem Assistenten der Abteilung, Herrn Vatnick, in sachgemäßer Weise ausgeführt, der ganze Dickdarm in Formalin konserviert. Er zeigte keine sehr hochgradige Veränderungen, war aber streckenweise etwas gequollen, die Schleimhaut hie und da stark gerötet oder auch hämorrhagisch und an einigen Stellen fanden sich kleine Geschwüre. Im übrigen ergab die Sektion doppelseitige Pneumonie und adhäsive Pleuritis. Hypertrophie beider Herzkammern und mäßige Sklerose der aufsteigenden Aorta. Linksseitige Hydronephrose.

Die mit den üblichen Methoden untersuchten Schnitte ließen die Parasiten in allen Abschnitten des Dickdarmes erkennen. In der Schleimhaut finden sie sich spärlich und meist nur an dem erhaltenen Kern kenntlich, während in der Submucosa, oft in unmittelbarer Nähe der Muskelschicht, nicht selten ganze Gruppen von Infusorien und meist in wohlgeordnetem Zustand liegen. Oefter hat man den Eindruck, daß vereinzelte oder in Reihen liegende Ziliaten in einem vorgebildeten, erweiterten Raume liegen, und mehrfach waren solche Räume von einer erkennbaren Wand umgeben, die mit Endothel ausgekleidet ist. Einige Male war auch die Wand eines venösen Gefäßes, das die Parasiten aufgenommen hatte, deutlich erkennbar.

Ein größeres Parasitennest fand ich in Schnitten aus dem mittleren Colon. Längs einer die Muskelschicht durchsetzenden gröberen Arterie, deren Kerne deutlich vermehrt sind, haben sich dichtgedrängt die Balantidien eingemistet, so daß in einem Schnitt 30—40 Exemplare zu zählen sind. Sie scheinen hier in einem erweiterten Spalt der Arterie umgebenden Bindegewebes zu liegen, der keine besondere Begrenzung erkennen läßt. Am reichlichsten hatten sich die Parasiten unter den schon makroskopisch

erkennbaren Geschwüren eingenistet. Die Submucosa war hier stark verbreitert durch Lockerung und ödematöse Quellung der Bündel des Bindegewebes und mäßig stark kleinzellig infiltriert. Diese Zellen waren ganz vorwiegend lymphozytäre Elemente, auch Plasmazellen ließen sich nachweisen, während Leukozyten ganz zurücktraten und eosinophile Zellen nur vereinzelt erkennbar waren. In den Maschen dieses Gewebes lagen dann reichlich die Infusorien, meist gut erhalten, so daß Kern, Vakuole, oft auch der Wimpersaum gut erkennbar waren.

Man kann nicht sagen, daß die zellige Infiltration sich an die Parasiten enger anlegte. Sie war meist gleichmäßig durch das Gewebe in deren Umgebung verteilt.

Noch ist ein Wort über die eigentliche Mucosa zu sagen. Die Drüsenschicht ist im allgemeinen niedrig und oft mit einer festhaftenden Schleimschicht bedeckt. Vielfach findet sich der Schleim auch in den Krypten. Diese sind erweitert, ihr Epithel unkenntlich. Ferner sind durch den ganzen Dickdarm hindurch kleine Nekrosen und Substanzdefekte nachweisbar. Die kleinsten umfassen nur wenige Krypten, die größeren erreichen makroskopische Sichtbarkeit. Im Bereiche der Nekrosen ist das Gewebe völlig homogen geworden. Kerne sind nicht mehr darstellbar, wenigstens solche des Gewebes nicht. Wohl aber sieht man hier sehr oft gut färbbare Parasitenkerne, von deren Zellleib nichts mehr erkennbar ist. Andererseits findet man nur sehr selten Parasiten in gut erhaltenen Krypten. Die Nekrosen reichen in der Regel nicht tiefer als bis zur *Muscularis mucosae*.

Bakterien sind in dem nekrotischen Gewebe natürlich nachweisbar. In dem lebenden Gewebe habe ich sie nicht angetroffen.

Die Frage, ob die Balantidien Ursache der Darmerkrankung sind, die man bei den mit ihnen behafteten Patienten fand, oder ob sie sich nur in einer schon veränderten Schleimhaut ansiedeln, ist noch nicht lange geklärt. In Anbetracht der geringen Zahl der bis jetzt sezierten und genauer untersuchten Fälle ist das auch nicht verwunderlich. Die Autoren, die nur das klinische Bild zu sehen Gelegenheit hatten, waren früher mehr geneigt, in den Infusorien zufällige, wenn auch nicht ganz harmlose Schmarotzer zu sehen, während diejenigen Beobachter, die den Darm solcher Kranken untersuchen konnten, meist in den Balantidien die Krankheitsursache sehen. Betrachtet man nur das klinische Bild der bisher besonders in Deutschland überlieferten Fälle, so scheint das Leiden nicht besonders schwer. Die Durchfälle schwinden nicht selten für kürzere oder auch für längere Zeit, mit ihnen die Parasiten aus dem Stuhl. Dieser Erfolg wird leicht auf die angewandte Therapie geschoben. Die Patienten entziehen sich der weiteren Behandlung oder Beobachtung und gelten wohl oft als wesentlich gebessert oder geheilt, während vielleicht später noch Rückfälle folgen.

Ueber den Sektionsbefund des Leidens sind wir in den letzten 20 Jahren auch durch deutsche Arbeiten unterrichtet worden. In der Regel fanden sich schwere, geschwürige Veränderungen durch den ganzen Dickdarm, während nur selten ein leichter Befund, bestehend in katarrhalischer Entzündung, so z. B. in dem 3. Falle Woits (4), beschrieben wird.

Der nähere Befund wird im ganzen übereinstimmend aus den verschiedensten Ländern, so von Strong und Musgrave von den Philippinen, von Solowjew aus Sibirien mit den späteren deutschen Mitteilungen dargestellt. So fand Askanazy (5) bei einer 63-jährigen Frau zahlreiche Geschwüre im gesamten Colon und Rectum von Stecknadelkopf- bis Erbsengröße, den Grund eitrig belegt, die Ränder oft unterminiert, die Schleimhaut schiefrig gefärbt mit vereinzelt frischen Blutungen. Im Schnittpräparat lagen zahlreiche Parasiten z. T. in Nestern vorwiegend in der Submucosa, in ihrer Umgebung zahlreiche eosinophile und polynukleäre Leukozyten.

Bakterien, die in der Nähe der Parasiten lagen, werden als sekundäre Eindringlinge angesehen. An der pathogenen Bedeutung des Balan-

tidium wird nicht gezweifelt, wenngleich die Annahme zulässig erscheint, daß vorhergegangene Alteration der Darmwand den Ziliaten das Eindringen ermöglicht.

Einen ähnlichen Standpunkt nimmt Rheindorf (6) ein, der im Berliner pathologischen Institut Därme, die aus dem russisch-japanischen Krieg stammten, zu untersuchen Gelegenheit hatte.

Auf einer eigenen Beobachtung fußend, hebt Löhlein (7) die Aehnlichkeit des Kolonbefundes mit dem der Amöbenruhr hervor. Er fand nämlich im Dickdarm etwa 150 kleinere und größere Geschwüre mit nekrotischem Zentrum und überhängendem Rand, dabei im ganzen vorgewölbt infolge beträchtlicher Verdickung der Submucosa im Bereiche der Geschwüre. Die regionären Drüsen waren nicht geschwollen. Auch hier bestand eine lebhaft leukozytäre Infiltration der Submucosa im Geschwürsgrund. Was die Balantidien angeht, so legt Löhlein Wert darauf, daß gut erhaltene Exemplare ganz allgemein viel häufiger und reichhaltiger in den tiefen Wandschichten zu finden waren als in der Schleimhaut oder deren nekrotischen Resten, in denen man dagegen nicht selten die gewaltigen, kugeligen, freien Kerne der zerfallenen Balantidien oder auch kernlose, in Zerfall begriffene Tiere antraf. Dieser Befund war unter der Annahme einer sekundären Ansiedlung nicht zu verstehen. Er legt vielmehr die Annahme nahe, daß die Einwanderung der Parasiten wohl vom Darmlumen erfolgte, die schweren Gewebsveränderungen aber erst durch den Zerfall der Infusorien und deren Zerfallsprodukte ausgelöst wurden.

Jaffé (8), der diesen Fall Löhleins kannte, hat dann nur auf Grund der makroskopischen Betrachtung in einem weiteren Fall, den er in Wilna sezierte und der während des Lebens als chronische Ruhr geführt war, die Bazillenruhr ausgeschlossen und Balantidien-Colitis diagnostiziert, wenngleich er es offen läßt, ob die Differentialdiagnose zwischen Amöbenruhr und Balantidiosis in jedem Falle mit Sicherheit zu stellen ist.

In Uebereinstimmung mit diesen Darstellungen, aber im Gegensatz zu Solowjew (9), fand auch ich die Parasiten gar nicht selten in den nekrotischen Stellen der Mucosa. Aber diese Exemplare waren fast ausnahmslos schwer verändert, meist nur an dem allein noch erhaltenen Kern erkennbar, während umgekehrt in der Submucosa ganz überwiegend wohlerhaltene Infusorien lagen.

Die pathogene Bedeutung der Balantidien wird wohl nicht mehr bestritten werden können. Sie dringen zunächst in die Drüsenschicht ein und wohl in der Regel in die Drüsenschläuche selbst, welche Annahme jedenfalls wahrscheinlicher ist als die, nach der sie sich zwischen den Krypten und Stroma einbohren. Jedenfalls sind sie in diesen nicht ganz selten nachweisbar. Diese Einwanderung geschieht wohl von vornherein an sehr zahlreichen Stellen. Die enorme Schleimproduktion, die in meinem wie in anderen Fällen gefunden ist, hängt wohl mit dieser Invasion zusammen. Einen längeren Aufenthalt in der Schleimhaut und in den Drüsen aber vertragen die Parasiten nicht. Sie sterben darin ab und bringen ihre Umgebung selbst zum Absterben. Sie scheinen sich dem Gewebe gegenüber ähnlich zu verhalten wie der *Cysticercus racemosus*, der, wie ich (10) in einer früheren Arbeit wahrscheinlich machen konnte, mit seinem Absterben schwerere Veränderungen an dem Zentralnervensystem hervorbringt als während seines Lebens. Sobald die Balantidien die Drüsenschicht passiert haben, finden sie in der Sub-

mucosa günstige Bedingungen ihrer Ansiedlung. Daß die Krankheit auch heilen kann, ist wohl sicher. Ob sie es noch in diesem 2. Stadium kann, darüber wissen wir noch nichts.

Ungeklärt ist auch noch das Schicksal der in die Gefäße eingedrungenen Balantidien. Man sollte demnach erwarten, daß man ihnen auch in andern Organen, als dem Darm, bei der mikroskopischen Untersuchung begegnen könnte. Leider war in unserm Falle von der pneumonischen Lunge nichts zur Untersuchung aufbewahrt worden, weil mir die Tatsache, das Stockvis die Ziliaten einmal im Auswurf eines Pat. gefunden hat, erst aus dem Studium der Literatur bekannt wurde. Uebrigens verhielt sich die Lunge makroskopisch nicht anders, wie es einer gewöhnlichen kruppösen Pneumonie entspricht.

Ganz ungeklärt ist noch der Vorgang, der zur Infektion des Menschen führt. Durch Leuckart wissen wir, daß die Parasiten gewöhnliche Schmarotzer im Darm des Schweines sind, und auch unser Pat. hatte Schweine gehalten. Aber es versteht sich von selbst, daß mit dieser Feststellung wenig geleistet ist, da ja trotz der allgemeinen Verbreitung der Schweinezucht die Balantidienerkrankung des Menschen so sehr selten ist.

#### Literatur.

- 1) Janowski, Ein Fall von Balantidium coli. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 32. 1897.) — 2) Ehrnrooth, Zur Frage der Pathogenität des Balantidium coli. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 49. 1903.) — 3) Brenner, Ueber Balantidien-Enteritis. (München. med. Wochenschr. 1919.) — 4) Voit, Drei neue Fälle von Balantidium coli. (D. Arch. f. klin. Med. Bd. 60. 1898.) — 5) Askanazy, Pathogene Bedeutung des Balantidium coli. (Wien. med. Wochenschr. Bd. 53. 1903.) — 6) Rheindorf, Ziliatendysenterie. (Berlin. klin. Wochenschr. Bd. 44. 1907.) — 7) Löhlein, Zur pathologischen Anatomie der Ruhr. (Med. Klin. 1917. Nr. 30.) — 8) Jaffé, Zur Pathologie der Balantidien-Colitis. (Centralbl. f. allgem. Pathol. Bd. 30. 1919.) — 9) Solowjew, Das Balantidium coli als Erreger chronischer Durchfälle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901.) — 10) Rosenblath, Ueber Cysticerkenmeningitis. (Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk. Bd. 22.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Aetiologie der Encephalitis lethargica.

[Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg (Direktor: Geh. Rat Paul Ernst).]

Von Dr. Fr. Reichert, Assistent.

In den Monaten Januar bis Juli 1920 kamen bei uns 8 klinisch einwandfreie Fälle von Encephalitis lethargica zur Sektion. Die bakteriologischen Befunde, die bei der Untersuchung der Gehirne erhoben werden konnten, sind vielleicht geeignet, etwas Licht in dies bisher recht dunkle Kapitel zu bringen. Deshalb seien sie hier mitgeteilt:

Bei allen an Encephalitis Verstorbenen konnten wir die gleichen Mikroorganismen nachweisen. Morphologisch handelt es sich um einen grampositiven, leicht lanzettförmigen, kapselfreien Kokkus, der meist paarig, vermischt mit einer mehr oder weniger großen Anzahl von Kettenformen, auftritt. Die Kerzenflammenbildung ist bei ihm aber nur als Grundtyp aufzufassen. Er kann sich auch als Kugel-, Stäbchen-, Semmel- oder Tetradenform in der gleichen Reinkultur finden. Die Polymorphie ist manchmal so groß, daß man versucht ist, an der Rein-

heit der Kultur zu zweifeln; doch belehren einen entsprechende Kultivierungsversuche, daß man es mit einer Reinkultur zu tun hat. Auf Nähr-, Glyzerin- und Aszitesagar ist der Kokkus durch seine äußerst feinen, meist nicht einmal stecknadelkopfgroßen Kolonien ausgezeichnet. Mikroskopisch erweisen sich diese Wuchsformen als scharfrandig mit feinkörnigem, bräunlichem Zentrum. Auf Bouillon entstehen feine Trübungen und außerdem ein feinkörniger, leicht aufschüttelbarer Bodensatz. Der Blutagar zeigt kleine, graue Kolonien, die manchmal einen grünlichen Ton haben. Doch ist das Grün niemals so intensiv wie beim *Pneumococcus* oder *Streptococcus viridans*. Von Zuckerarten wird aus Milchzucker, Traubenzucker, Mannit, Maltose und Saccharose Säure gebildet. Nach dieser Beschreibung besteht wohl kein Zweifel darüber, daß wir es mit dem Bernhardschen *Diplostreptococcus*, den Wiesner als *Streptococcus pleomorphus* beschrieben hat, zu tun haben.

Die Züchtung aus der Leiche wurde jedesmal so ausgeführt, daß das steril entnommene Herzblut in Mengen von 2–3 ccm in Heimsche Leberbouillon geimpft wurde. Vom Cerebrum wurden große Blöcke aus den Basalganglien 1–2 Std. mit 2 Prom. Oxyzyanat behandelt, mehrmals mit steriler physiolog. Kochsalzlösung abgespült und ihnen dann noch die Randpartien abgeschnitten. Nur die zentralen Teile wurden in Heimsche Leberbouillon versenkt. Ich lege besonderen Wert auf dieses anaërobe Verfahren und kann mich dabei auf die Erfahrungen von Wiesner stützen, der ausdrücklich hervorhebt, daß die Kokken anfangs anaërobe Verhältnisse vorziehen und bei sofortigem Verimpfen des Untersuchungsmaterials auf Platten nicht angehen. Auf diesen methodologischen Fehler scheinen mir die vielen Versager bei bakteriologischen Untersuchungen von Gehirnsubstanz von Encephalitisleichen zurückzuführen zu sein. Nach 20 Std. waren bei obengenanntem Verfahren stets die Erreger in großen Mengen gewachsen. Von der Bouillon wurde dann zur Züchtung der Reinkulturen auf Glyzerinagar oder Aszitesagar abgeimpft. Durch diese Methode wurde der Kokkus bei 8 Leichenuntersuchungen 4mal im Cerebrum und Herzblut, 3mal nur im Cerebrum, da infolge der erst spät nach dem Tode erfolgenden Sektion auf die Prüfung des Herzblutes verzichtet wurde, und 1mal nur im Cerebrum gefunden, während das Herzblut steril blieb. Abgesehen von dieser primär gezüchteten Reinkultur aus dem Cerebrum, war er 4mal mit Fäulnisregnern und *Coli* vermischt und 3mal mit *Pyocyanus* und *Coli*. Beim Lebenden war der Kokkus weder im Liquor (4 Fälle), noch im Blut (3 Fälle) nachweisbar.

Hier seien einige Angaben aus den histologischen Untersuchungen der Gehirne, die von Herrn Prof. W. Gross hier ausgeführt wurden, eingefügt: Die histologische Untersuchung ergab 1mal Herde im Gehirn mit Untergang von Nervenzellen und starker Gliawucherung; gelegentlich, allerdings selten, auch kleine Blutungen in die Gefäßscheiden und außerdem perivaskuläre Infiltrate hauptsächlich aus Lymphozyten und Plasmazellen und mehr oder weniger starke Infiltrationen der Pia mater. In diesen pialen und perivaskulären Infiltraten fanden sich nun unregelmäßig sehr zahlreiche Körnchen, die, zu zweien oder viereen gelegen, in Größe und Aussehen an die Kokken erinnerten. Sie unterschieden sich von typischen Kokken durch ihre schlechte Färbbarkeit und ihre unscharfe Begrenzung, so daß es zweifelhaft bleibt, ob man hier zerfallende, in Auflösung begriffene Kokken oder aber Trümmer untergehenden

Gewebes vor sich hat. Die Tatsache, daß man diese Körnchen sehr oft in Infiltraten sehen kann, die keine Zellentartung erkennen lassen, spricht dafür, daß es sich um untergehende Kokken handelt. Außerdem aber waren sowohl in den pialen, wie in den perivaskulären Infiltraten nicht ganz selten bei Kresylviolett-, Giemsa- oder Gram-Färbung typische Kokken nachzuweisen, die immer in den Lymphspalten gelegen, teils einzeln als Diplokokken oder als Tetradenformen, teils in ganzen Häufchen beobachtet werden konnten. Nur 1mal bei einem Fall mit sehr starken pialen Veränderungen fanden sich diese Kokken auch in kleineren Herdchen gewucherter Glia in der ersten Rindenschicht außerhalb der Gefäßscheiden. — Der histologische Befund erweckt den Eindruck, daß diese Mikroorganismen auf dem Lymphwege ins Gehirn kommen, wo sie sich in der Pia mater und den perivaskulären Lymphscheiden ausbreiten, und daß sie im Gehirn verhältnismäßig rasch zugrunde gehen. (An anderer Stelle wird später von Herrn Prof. W. Gross genauer über diese Befunde berichtet werden.)

Es erhebt sich nunmehr die Frage, was dieser Mikroorganismus mit der Pathogenese der Encephalitis zu tun haben kann. Wir wollen erst einmal erwägen, ob er überhaupt etwas mit ihr zu tun hat. Man kann diese zweite Frage, glaube ich, bejahen. Irgendwelche gesetzmäßigen Zusammenhänge zwischen der Krankheit und dem Virus müssen bestehen, da sein Nachweis in 100 Proz. der Fälle gelang! Davon ausgehend, daß wir den Erreger nicht beim Lebenden nachweisen konnten, könnte man einwenden, daß der Diplokokkus in der Leiche aus dem Darm eingewandert sei. Dagegen ist aber anzuführen, daß über den Kokkus als Nebenfund im Leichenblut bisher nie berichtet wurde, daß sein Vorkommen im Darm nie beobachtet ist, und daß auch die ihm sicher artverwandten Streptokokken fast niemals aus dem Intestinaltraktus ins Leichenblut einwandern. Es wird der Befund von Streptokokken im Leichenblut stets als der Beweis ihres Vorhandenseins *intra vitam* angesehen. Schließlich ließe sich noch gegen die cerebrale Wirksamkeit des Kokkus anführen, daß durch seinen bakteriologischen Nachweis im Cerebrum durchaus nicht seine Ansiedlung im Gehirn erwiesen ist, da die Züchtung aus der Gehirnsubstanz in Wahrheit eine Kultivierung aus dem in den Gefäßen des Gewebes befindlichen Blut sei. Dem widerspricht aber aufs Eindeutigste der unter unseren Fällen, bei dem das Herzblut steril blieb, während sich aus dem Cerebrum eine Reinkultur von Diplo-Streptokokken entwickelte, und außerdem die histologischen Befunde von W. Gross.

Was nun die speziellere Bedeutung des Virus bei der Pathogenese der Encephalitis betrifft, so können darüber zurzeit nur mehr oder weniger gut begründete Vermutungen geäußert werden. Einmal kann es sich um ein obligates Begleitbakterium, wie der *Bacillus suispestifer* es bei der Schweinepest ist, handeln. Oder es liegt ein Sekundärerreger vor, der sich fast regelmäßig an die Invasion des primären Virus anschließt, oder wir haben es mit einem Mikroorganismus zu tun, der dem eigentlichen Erreger vorausgeht und den Körper für seine Aufnahme empfänglich macht. Schließlich kann der Kokkus selbst der Erreger sein! Wenn ich behaupte, daß diese letzte Auffassung viel Wahrscheinliches für sich hat, so stütze ich mich dabei hauptsächlich auf die Versuche von Wiesner. Wiesner erzeugte beim Affen durch subdurale Injektion von Hirnsubstanz eines an Encephalitis Verstorbenen eine in klinischer und pathologisch-anatomischer Beziehung ty-



pische Encephalitis und konnte aus dem Cerebrum des Affen seinen *Streptococcus pleomorphus* kultivieren. Außerdem infizierte er einen Affen subdural mit einer Reinkultur der Kokken und löste damit ein typisches Krankheitsbild und auch eine typische hämorrhagische Encephalitis, wie die pathologisch-anatomische Untersuchung zeigte, aus. Diese Beobachtung wird von Economo bestätigt. Ein Kaninchen, dem Wiesner Gehirnemulsionen dieses Affen intraperitoneal injizierte, starb an hämorrhagischer Peritonitis und ausgedehnten Hämorrhagien. Der Autor kommt zu dem Schluß, daß der *Streptococcus pleomorphus* der Erreger der Encephalitis und der hämorrhagischen Grippeformen ist. Wir möchten uns, da die Beweiskraft dieser Wiesnerschen Versuche recht groß ist, der Meinung des Autors hinsichtlich seiner ätiologischen Bedeutung für die Encephalitis anschließen. Auch Economo nimmt diesen Standpunkt ein. Er führt nur eine scharfe Trennung zwischen echter Lethargica und Grippeencephalitis durch, indem er die erstere für eine Krankheit sui generis erklärt. Dabei stützt er sich auf folgende pathologisch-anatomische Daten: Bei der Lethargica finde sich Neuronophagie, und außerdem sei sie eine reine Polioencephalitis. Bei der Grippe aber fehle die Neuronophagie, und die Herde seien wahllos über die graue und weiße Substanz verstreut. Außerdem führt er einen epidemiologischen Grund an: Während der ganzen Grippeepidemie 1918/19 sei in Wien kein Fall von Encephalitis beobachtet worden.

Wir haben hiermit schon ein zweites, mit der Lethargica in Zusammenhang stehendes Problem, das ist ihre Beziehung zur Grippe, berührt. Gegen eine ätiologische Einheit beider Erkrankungen wird nämlich außerdem angeführt, daß die Lethargica erst auftrete, wenn die Grippe erloschen ist. Diese Tatsache kann man sich unter Heranziehung der Sahlischen Annahme vom komplexen Grippevirus verständlich machen. Der Autor vertritt die Meinung, daß die Vielheit der Keime, die bei der Influenza gefunden werden, so Streptokokken, Staphylokokken, Pfeiffer-Bazillen, *Micrococcus catarrhalis*, Pneumokokken und Diplo-Streptokokken zusammen den Organismus anfallen und das Krankheitsbild auslösen. Diese Keime bilden, da sie gleichzeitig eindringen und außerdem ihre pathogenen Eigenschaften gegenseitig steigern, eine höhere Einheit. Nun ist es sehr wahrscheinlich, daß gegen Strepto- und Staphylokokken eine Immunisierung eintritt und auch bis zu einem gewissen Grade gegen die Pfeiffer-Bazillen. Unsicher ist sie nur beim Pneumokokkus und Diplostreptokokkus. Wegen dieser partiellen Immunität gegen das komplexe Grippevirus erlischt die Epidemie, da die Keime, die allein infektionstüchtig bleiben, keine Grippe auslösen können. Diese letzteren sind aber imstande, jederzeit ein von der Grippe verschiedenes, ein Krankheitsbild sui generis, zu erzeugen. Das ist beim Diplostreptokokkus die Lethargica!

Hier spielt nun wahrscheinlich noch ein anderes Moment mit. Das ist die Disposition! Darauf müssen wir aus folgender Tatsache schließen: Die Encephalitiskranken bedeuten für ihre Umgebung kaum eine Gefahr. Infektionen in Krankensälen sind trotz Vernachlässigung aller Absperrungsmaßregeln nicht beobachtet worden. Das ist etwas Ungewöhnliches bei einer Infektionskrankheit. Daß diese Patienten aber das Virus, das sie beherbergen, niemals ausscheiden, ist eine sehr unwahrscheinliche Vermutung. Wir kennen dergleichen von keinem Infektionserreger, abgesehen von einigen, die durch Zwischenträger übertragen

werden (Fleckfieber). Auch bei Fällen von sogenannter kryptogener Sepsis muß ein primärer Ansiedlungsherd auf einer Schleimhaut oder der äußeren Haut vorhanden gewesen sein, von dem eine Ausscheidung des Erregers möglich war. Diese scheinbare Infektionsuntüchtigkeit der Encephalitiskranken kann mithin nur auf das refraktäre Verhalten der anderen Menschen zurückgeführt werden. Nur besonders Empfängliche fallen der Diplostreptokokkeninfektion zum Opfer! Damit kommt hier der Disposition eine so ausschlaggebende Bedeutung zu, wie wohl bei keiner anderen kontagiösen Krankheit.

Kurz zusammengefaßt sind also die Beziehungen zwischen Grippe und Lethargica in folgender Weise auffaßbar: Gegen einen Teil des komplexen Grippevirus wird Immunität erworben. Damit erlischt die Epidemie. Die Keime aber, gegen die keine Immunität eintritt, bleiben infektionstüchtig. Zu diesen gehört der Diplostreptokokkus, der bei besonders disponierten Individuen die Lethargica erzeugt. So ist die Lethargica von der Grippe verschieden und doch mit ihr verwandt. Hiermit ist die Tatsache des Auftretens der Encephalitis erst nach dem Erlöschen der Grippeepidemie verständlich geworden. Ueberdies steht diese Auffassung mit dem Aufflackern vereinzelter Fälle während der Seuche in keinerlei Gegensatz. Denn jederzeit kann die Infektion eines empfänglichen Individuums durch den Diplo-Streptokokkus allein erfolgen.

Der hier angenommene ätiologische Zusammenhang zwischen Grippe und Encephalitis wird von zahlreichen Autoren vermutet.

Naef berichtet, daß die von ihm beobachteten Encephalitidfälle fast alle in die Zeit des Abklingens der Grippeepidemie fallen. Er kann sich daher nicht dahin festlegen, daß kein Zusammenhang zwischen Encephalitis und Grippe besteht. Auch Siemerling will die von ihm behandelten Encephalitiserkrankungen in einen Zusammenhang mit der Grippe bringen. Er nimmt davon Abstand, über die Richtigkeit des Standpunktes von Economo zu entscheiden. Deutlicher nimmt Speidel Stellung. Er erklärt die von ihm gesehenen Encephalitidfälle als Folge der Lokalisation des Grippe-toxins im Gehirn. Außerdem lassen sich hier noch Reinhard und Oberndorfer anführen, die einen ätiologischen Zusammenhang zwischen beiden Krankheiten für ziemlich wahrscheinlich halten. Und Sohlern spricht von der Encephalitis als von einer im Hirn sich lokalisierenden Grippeform. Einen ganz negierenden Standpunkt nimmt jedoch Strümpell ein, trotzdem er hervorhebt, daß die Lethargica jedesmal im Anschluß an eine Grippeepidemie aufgetreten sei und trotzdem er berichtet, daß er 3 Fälle sah, bei denen sich unmittelbar an eine Influenzapneumonie eine Lethargica anschloß. Strümpell stützt seine Meinung hauptsächlich durch den pathologisch-anatomischen Hinweis, daß die Influenza-Encephalitis eine hämorrhagische sei, die Lethargica aber nicht.

Ich möchte vor einer zu großen Einschätzung des mehr oder weniger hämorrhagischen Charakters der Entzündung als ätiologisches Trennungsmoment warnen. Denn Economo sieht auch kleine Blutungen für charakteristische Erscheinungen bei der Lethargica an und ebenso Oberndorfer und Höstermann. Und selbst, wenn der pathologisch-anatomische Befund bei der sogenannten Grippeencephalitis und bei der Lethargica ziemlich stark differieren, so ist das kein sicherer Gegenbeweis gegen eine ätiologische Verwandtschaft beider Gewebsreaktionen. Ich erinnere daran, daß auch von anderen Infektionserregern die verschiedensten anatomischen Veränderungen ausgelöst werden können. So erzeugt der *Bacillus paratyphi* B einmal eine Periostitis, dann ein Darmgeschwür und schließlich eine puerperale Sepsis. Oder der Friedländer-Bazillus bewirkt einmal eine Otitis media, dann einen Nierenabszeß, dann eine Pneumonie und schließlich eine Endocarditis. Das sind Beispiele für die verschiedensten Veränderungen

durch den gleichen Erreger an verschiedenen Organen. Doch lassen sich auch solche für ganz differente Bildungen an den gleichen Organen anführen. Der Tuberkelbazillus kann in der Lunge ebenso die Bildung eines Knötchens wie die einer käsigen Pneumonie auslösen und in den Meningen zur Entstehung einer rein exsudativen Entzündung oder eines spezifischen Granulationsgewebes Anlaß geben. Es widerspricht mithin der Annahme, daß der Diplostreptokokkus beide obengenannten Reaktionsformen des zerebralen Gewebes auslösen kann, kein prinzipieller Einwand. Damit will ich nicht sagen, daß die sogenannte Grippeencephalitis in ätiologischer Beziehung etwas mit der Lethargica gemeinsam haben muß, doch kann ich nicht zugeben, daß das Gegenteil bewiesen ist. Es ist nach dem vorher Gesagten eine Beziehung sogar wahrscheinlich.

Bedenken wir bei der Erörterung der ätiologischen Beziehungen zwischen Encephalitis und Grippe aber ferner, daß der Diplo-Streptokokkus von vielen Autoren bei Grippe in so außerordentlicher Häufigkeit gefunden wurde, daß an seiner pathogenetischen Mitwirkung bei dieser Krankheit wohl nicht mehr gezweifelt werden kann. Ich nenne nur die Arbeiten von Burkhardt, Friedländer, Gruber, Meyer, Stein und Weismann, Bernhard und die Engländer Newsholme und Hallows. Halten wir dem nun gegenüber, daß Cohn und Lauber das Virus intra vitam aus dem Blut eines Encephalitiskranken züchteten und daß Wiesner und wir ihn in allen Fällen von Encephalitis fanden, so drängt sich einem der ätiologische Zusammenhang zwischen beiden Erkrankungen förmlich auf! Und wenn Wiesner behauptet, daß das Virus besonders zur Ausbildung hämorrhagischer Grippeformen Anlaß gäbe, so können wir auch diese Beobachtung durch einen analogen Fall stützen: Wir seziierten nämlich eine schwerste hämorrhagische Diathese, die in eine Grippeepidemie fiel, und unter den Symptomen der Grippe erkrankt war, und bei der wir den Diplo-Streptokokkus in Reinkultur aus dem Herzblut züchteten.

Da sich nun einerseits kein beweiskräftiger Grund gegen die ätiologische Verwandtschaft beider Erkrankungen anführen läßt, eine Reihe wichtiger Momente aber dafür spricht, so müssen wir uns denen anschließen, die eine enge ätiologische Beziehung zwischen beiden Krankheiten annehmen!

Doeh sei darauf hingewiesen, daß hiermit die ätiologischen Möglichkeiten des Diplostreptokokkus nicht erschöpft sind. So mannigfaltig seine Morphologie ist, so vielseitig scheinen auch die klinischen Bilder zu sein, die er auslösen kann. Wir sahen ihn, abgesehen von der oben erwähnten hämorrhagischen Diathese, bei einer schleichenden kindlichen Sepsis und bei einer akuten Sepsis des Erwachsenen, wo er mit Staphylokokken vermischt war. Außerdem züchteten wir ihn 2mal aus dem Herzblut bei langsam verlaufenden Endocarditiden, einer kindlichen Pneumonie nach Masern und bei einem vom Ohr ausgegangenen Kleinhirnsabszeß. Doch müssen wir auch bei allen diesen Infektionen eine besondere Disposition des befallenen Organismus annehmen. Dafür spricht die Seltenheit dieser Erkrankungen im Gegensatz zu dem äußerst häufigen Befund von Diplostreptokokken bei Grippe, wo der Keim als Mischinfektionserreger offenbar pathogener wirkt.

Es scheint also, als sei der Diplostreptokokkus ein Septikämieerreger, der, je nach seiner Ansiedelung im einen oder anderen Organsystem, verschiedene, meist schleichend verlaufende Krankheitsbilder auslöst. Er

ist aber nicht sehr infektiös und es bedarf für ihn zur Entfaltung pathogener Wirkungen einer besonderen Disposition des befallenen Organismus. Als Mischinfektionserreger aber ist er wahrscheinlich bedeutend pathogener. So ist er in dieser Rolle an der Entstehung der Grippe beteiligt. In beiden Fällen aber kommt ihm die Fähigkeit der Gefäßwandschädigung zu, was aus den schweren hämorrhagischen Erscheinungen, die er bewirken kann, hervorgeht.

Durch ausgedehnte Tierexperimente, besonders an Affen, müßten diese Anschauungen kontrolliert werden. Doch ist uns die Ausführung dieser Versuche wegen Tiermangels unmöglich.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Bernhardt, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 778; Med. Klin. 1918. S. 683.
- 2) Burkhardt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1919. S. 425. — 3) Economo, Neurolog. Centralbl. 1917. S. 866; Wien. klin. Wochenschr. 1919. S. 393. — 4) Friedberger, Med. Klin. 1919. S. 108. — 5) Gruber, München. med. Wochenschrift. 1918. S. 905. — 6) Hallows, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1920. S. 312. — 7) Höstermann, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. S. 707. — 8) Meyer, Ebenda. 1919. S. 173. — 9) Naef, München. med. Wochenschr. 1919. S. 1019. — 10) Newsholme, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1920. S. 311. — 11) Oberndorfer, München. med. Wochenschr. 1919. S. 1019. — 12) Siemerling, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 505. — 13) Reinhardt, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. S. 514. — 14) Speidel, München. med. Wochenschr. 1919. S. 985. — 15) Sohlern, Med. Klin. 1919. S. 535. — 16) Strümpell, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. S. 705. — 17) Stein u. Weissmann, Wien. klin. Wochenschr. 1918. S. 993. — 18) Wiesner, Wien. klin. Wochenschr. 1918. S. 1101; ebenda. 1917. S. 933. — 19) Sahli, Korrespondenzbl. Schweiz. Aerzte. 1919. S. 1 u. 193. — 20) Cohn u. Lauber, München. med. Wochenschr. 1920. S. 688.

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen über die Gattungen *Cylicostomum*, *Poteriostomum* und *Craterostomum*.

Von J. E. W. Ihle, Zoologisches Laboratorium der Tierärztlichen Hochschule, Utrecht.

Mit 2 Textfiguren.

Nachdem Looss' treffliche Arbeiten gezeigt hatten, daß unter dem Namen *Cylicostomum tetracanthum* zahlreiche Arten zusammengefaßt wurden, hat nach einer Periode von Ruhe erst die Literatur der letzten Jahre zahlreiche Beschreibungen von neuen, namentlich im Dickdarm des Pferdes lebenden Arten dieser Gattung gebracht.

Ich lasse hier eine Liste aller im Darm der Equidae aufgefundenen Arten der Gattungen *Cylicostomum*, *Poteriostomum* und *Craterostomum* folgen<sup>1)</sup>.

Während ich anfänglich geneigt war, *Poteriostomum* (Ihle, 1920 c, S. 280; 1920 d, S. LXXVII) als eine Untergattung von *Cylicostomum* zu betrachten, möchte ich jetzt *Poteriostomum* wieder als selbständige Gattung von *Cylicostomum* trennen. Nach einem Briefwechsel mit Prof. C. L. Boulenger betrachte ich ebenso *Craterosto-*

1) Das reiche Strongylidenmaterial, das von der Kommission für die Untersuchung der Sklerostomiasen in Holland gesammelt worden ist, hat mich zur Bearbeitung einer kurzen systematischen Monographie der im Darm des Pferdes lebenden Strongyliden veranlaßt.

mum als selbständiges Genus. Jetzt sind also alle Formen, bei welchen der Abstand zwischen Vulva und Anus und zwischen Anus und Hinterende sehr groß ist, aus der Gattung *Cylicostomum* entfernt.

### **Cylicostomum.**

Die Arten dieser Gattung habe ich versuchsweise in vorläufige Gruppen geordnet, von welchen die 3 erstgenannten schon von Looss (1902, S. 130—132) unterschieden worden sind. Einige dieser Gruppen besitzen vielleicht den Wert von Untergattungen, was auch die Ansicht von Boulenger ist, wie er mir brieflich mitteilte, während Looss geneigt war, die 2. und 3. Gruppe (s. u.) als selbständige Gattungen zu betrachten (1902, S. 132). Manche Gruppen enthalten nur eine Art. Von einer vollständigen Charakteristik der Gruppen habe ich abgesehen.

I. *Radiatum-elongatum*-Gruppe. Hinterrand der Mundkapsel ringförmig verdickt. Elemente der inneren Blätterkrone meistens klein und zahlreich, meistens in der unmittelbaren Nähe des Vorderrandes der Mundkapsel entspringend. Hinterende des ♀ gerade oder schwach dorsalwärts gebogen.

*C. radiatum* (Looss), 1902, p. 129.

*C. elongatum* (Looss), 1902, p. 129.

*C. elongatum* (Looss) var. *Kotláni* Ihle, s. u.

*C. insigne* Boulenger, 1917, p. 207.

*C. zebrae* Boulenger, 1920a, p. 102 (Zebra).

*C. adersi* Boulenger, 1920, p. 30 (Esel, Afrika).

*C. nassatum* (Looss), 1902, p. 128.

*C. nassatum* (Looss) var. *parvum* Yorke et Macfie, 1918, p. 400.

*C. ultrajectinum* Ihle, s. u.

*C. auriculatum* (Looss), 1902, p. 130.

Das ♀ letztgenannter Art nähert sich durch den Besitz eines Hinterendes, welches einem von der Seite betrachteten menschlichen Fuß ähnlich ist, der 2. Gruppe.

II. *Alveatum-catinatum*-Gruppe. Hinterrand der Mundkapsel nicht ringförmig verdickt. Elemente der inneren Blätterkrone oft in bedeutender Entfernung vom Vorderrand der Mundkapsel entspringend. Hinterende des ♀ stark dorsalwärts gebogen mit einer Anschwellung vor der Vulva, so daß es einem von der Seite gesehenen menschlichen Fuß ähnlich wird.

*C. alveatum* (Looss), 1902, p. 127.

*C. catinatum* (Looss), 1902, p. 128.

*C. pseudocatinatum* Yorke et Macfie, 1919, p. 273.

*C. pateratum* Yorke et Macfie, s. u.

*C. goldi* Boulenger, 1917, p. 210.

*C. Mettami* Leiper, 1913, p. 460.

III. *Tetracanthum-coronatum*-Gruppe. Die äußere Blätterkrone besteht aus 18—24 Elementen; die der inneren Krone sind lang und dünn, in einiger Entfernung vom Vorderrand der Mundkapsel entspringend. Mundkapsel ziemlich kurz. Hinteres Körperende gerade oder etwas dorsalwärts gebogen.

*C. tetracanthum* (Looss), 1902, p. 124.

*C. labratum* (Looss), 1902, p. 124.

*C. ornatum* Kottán, 1919, p. 10.

*C. labiatum* (Looss), 1902, p. 125.

*C. coronatum* (Looss), 1902, p. 125.

IV. *Calicatum*-Gruppe. Mundkapsel meistens tief und zylindrisch. Elemente der inneren Blätterkrone meistens kurz und in der unmittelbaren Nähe des Vorderrandes der Mundkapsel entspringend. Hinterende des ♀ meistens gerade.

*C. calicatum* (Looss), 1902, p. 127.

*C. minutum* Yorke et Macfie, 1918, p. 405.

*C. longibursatum* Yorke et Macfie, s. u.

*C. poculatum* (Looss), 1902, p. 126.

Letztgenannte Art scheint auch mit *Craterostomum* verwandt zu sein (Ihle, 1920a, p. 134), entfernt sich andererseits nicht unbeträchtlich von *C. calicatum* (mehr durch die fein gezähnelte, ringsum geschlossene Bursa), so daß Looss (1902, p. 132) beide Arten nicht zu einer Gruppe vereinigt.

V. *C. euproctus* Boulenger, 1917, p. 204. Elemente der inneren Blätterkrone

ab. Genitalconus außerordentlich lang. Hinterende des ♀ gerade. Diese Art scheint

sich *C. bicoronatum* und *Poterioatomum* etwas zu nähern; nähere Verwandtschaft zu *C. Mettami*, welche Art ebenfalls einen sehr langen Genitalconus besitzt, scheint nicht zu bestehen.

VI. *C. bicoronatum* (Looss), 1902, p. 125. Elemente der inneren Blätterkrone sehr groß. Vor der Vulva eine Hervorragung der Ventralseite des Körpers.

VII. *C. brevicapsulatum* Ihle, 1920b, p. 182; 1920e, p. 562, ist charakterisiert durch die sehr kurze Mundkapsel.

VIII. *C. Montgomeryi* Boulenger, 1920a, p. 104 (Zebra), nähert sich nach Boulenger der *Murshidia falcifera* (Cobbold) (C. Lane, 1914, p. 389) durch den Bau der Mundkapsel. Ich möchte aber bemerken, daß letztgenanntem Parasiten des Elephanten die Elemente der inneren Blätterkrone fehlen, während die Ursprungsstelle der Elemente der äußeren Krone lateral bis auf die Mitte der Mundkapsel herabsteigt.

### *Cylicostomum elongatum* (Looss) var. *Kotláni* Ihle.

*C. elongatum* (Looss), var. *Kotláni* Ihle, 1920d, p. LXXVII.

In dem von mir untersuchten Material findet sich ein ♂ von *C. elongatum*, welches sich durch die außerordentliche Länge des mittleren Lappens der Bursa auszeichnet. Dieses ♂ ist 13 mm lang (Länge des Oesophagus 1290  $\mu$ ). Der Abstand zwischen dem Hinterende des Hauptastes der dorsalen Rippe und der Ursprungsstelle der externo-dorsalen Rippe beträgt 1,5 mm. Bei den typischen Exemplaren von *C. elongatum* beträgt dieser Abstand, berechnet nach der Fig. 97 (Pl. VIII) von Looss, etwa 1 mm, bei einem von mir gemessenen Exemplar von etwa 10 mm Länge nur 650  $\mu$ .

Herr Dr. Kotlán teilt mir mit, daß seine Exemplare von *C. elongatum* ebenfalls einen sehr langen Mittellappen besitzen. Sie gehören also wohl zu derselben Varietät, welche ich nach dem ungarischen Forscher var. *Kotláni* genannt habe.

### *Cylicostomum ultrajectinum* Ihle.

*C. ultrajectinum* Ihle, 1920c, p. 279.

Diese Art wurde schon kurz beschrieben. Es wurde nur ein ♀ gesammelt, das eine Körperlänge von 12 mm und eine maximale Dicke von 600  $\mu$  zeigt.

Der Mundkragen (Fig. 1) ist ziemlich hoch und durch eine deutliche Furche abgegrenzt. Die lateralen Papillen sind kurz und stumpf, die submedianen ziemlich breit; durch eine Einschnürung dicht am distalen Ende ist die abgerundete Spitze vom proximalen Teil der Papille abgegrenzt.

Die äußere Blätterkrone besteht aus nur 10 sehr großen, breiten Elementen, deren weit aus der Mundöffnung hervorragende Spitzen nach hinten umgebogen sind.

Die Elemente der inneren Blätterkrone sind groß und bedeutend zahlreicher als die der äußeren. Es ist ein eigentümliches Merkmal dieser Art, daß manche der Elemente der inneren Blätterkrone vergrößert sind. Die Enden dieser größeren Elemente sind krallenartig gebogen und ragen aus der Mundöffnung hervor. Die Zahl der größeren Elemente beträgt ungefähr 10, was aber nicht mit völliger Sicherheit festgestellt werden konnte, da ich vom einzigen, in Glyzerin aufgehellten, aber nicht sehr durchscheinenden Exemplare das Vorderende nicht abschneiden wollte, um die Mundhöhle, von vorn betrachtet, zu untersuchen. Die Zahl der normalen Elemente der inneren Blätterkrone, welche zwischen 2 verlängerten Elementen liegt, beträgt 1—3.

Die Mundkapsel ist weit, aber untief. Die Tiefe (der Längsachse parallel) beträgt ca. 60  $\mu$ , die Breite (in ungefähr dorso-ventraler Rich-

tung) ca.  $170\ \mu$ . Die Wand der Mundkapsel ist ziemlich dick und außerdem am Hinterrand stark ringförmig verdickt.

Der Oesophagus ist  $700\ \mu$  lang. Er hat über seine ganze Länge eine beträchtliche Dicke; die geringste Dicke beträgt  $220\ \mu$ , die maximale hinter dem Nervenring  $310\ \mu$ .

Die Exkretionsblase liegt weit nach hinten, und zwar gleich vor der Stelle, wo der Oesophagus sich in den Mitteldarm fortsetzt.

Schon vor der Vulva wird der Körper dünner (Fig. 2). Von hier steigt die dorsale Medianlinie nur wenig ventralwärts ab, während die ventrale Medianlinie stark dorsalwärts aufsteigt. Die Vulva ist  $265\ \mu$  vom After entfernt; der Abstand zwischen Anus und hinterem Körperende beträgt  $170\ \mu$  (der Körperachse entlang gemessen). Der Körper endet in eine kurze Spitze ( $48\ \mu$  lang), welche an der dorsalen Seite durch eine Einschnürung (eine Folge der Fixation?) begrenzt wird.

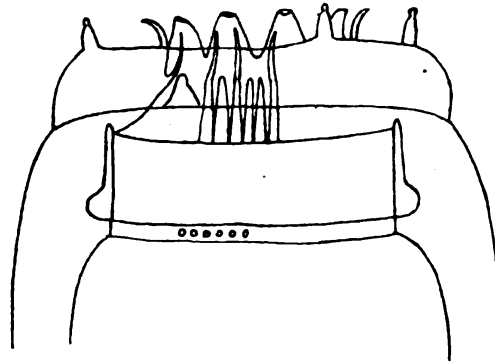


Fig. 1.

Fig. 1. *C. ultrajectinum*. Der vordere Teil des Körpers ungefähr von der Seite gesehen, teilweise im optischen Längsschnitt. 3 normale und 4 vergrößerte Elemente der inneren Blätterkrone sind eingezeichnet.  $\times 265$  ( $\times \frac{3}{4}$ ).

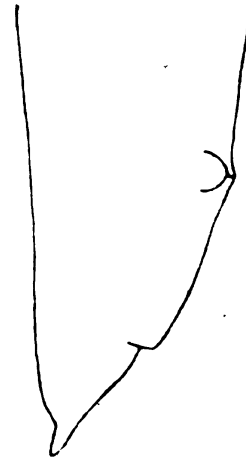


Fig. 2.

Fig. 2. *C. ultrajectinum*. Das hintere Körperende des ♀, von der rechten Seite gesehen, mit Vulva und After.  $\times 110$  ( $\times \frac{3}{4}$ ).

Von den übrigen Arten der *radiatum-elongatum*-Gruppe unterscheidet *C. ultrajectinum* sich durch die geringe Zahl und die Größe der Elemente der äußeren Blätterkrone und durch den Besitz von vergrößerten Elementen in der inneren.

#### *Cylicostomum pateratum* Yorke et Macfie.

*C. pateratum* Yorke et Macfie, 1919, p. 57.

*C. cymatostomum* Kotlán, 1919, p. 11.

*Cylicnostomum cymatostomum* Kotlán, 1919a, p. 559.

Die Beschreibung von *C. pateratum* erschien, wie Herr Kollège Yorke so freundlich ist, mir mitzuteilen, am 12. Mai 1919, während Dr. Kotláns ungarische Abhandlung nach Angabe des Autors am 31. Mai 1919 veröffentlicht wurde. Die deutsche Mitteilung des letztgenannten Autors (1919a) erschien aber erst am 31. Okt. 1919.

Ich konnte die mir vorliegenden, in Holland gesammelten Exemplare dieser Art mit mir von Prof. Yorke zugesandten Exemplaren von *C. pateratum* vergleichen und mit Sicherheit feststellen, daß sie zu derselben Art gehören, während Herr Dr. Kotlán so freundlich war, mir die

Kopie einer Zeichnung von *C. cymatostomum* zuzusenden. Die Identität beider Arten scheint mir nicht zweifelhaft zu sein, obwohl die Exemplare von Kotlán bedeutend größer sind als die von Yorke und Macfie. Folgende Tabelle zeigt die Maße von Yorke und Macfie (und mir) neben den von Kotlán:

	<i>C. pateratum</i>	<i>C. cymatostomum</i>
Länge des ♂	8–9,5 mm	10–11 mm
„maximale“ Dicke des ♂	8,4–12 mm	13–15 „
„maximale“ Dicke des ♀	380 $\mu$	600 $\mu$
Zahl „der Elemente“ der äußeren Blätterkrone	393 „	700 „
Länge des Oesophagus ♀	24–25	20–24
	561–650 $\mu$	760 $\mu$

Als wichtiges Merkmal dieser Art erwähne ich noch, daß der völlig ausgebreitete Mundkragen lateral niedriger ist als dorso-median und ventro-median, so daß bei Betrachtung von der Seite die hintere Grenze der Mundkragens nicht genau quer, sondern von der Basis der lateralen Papille aus quer und etwas nach hinten verläuft.

#### *Cylicostomum longibursatum* Yorke et Macfie.

*C. longibursatum* Yorke and Macfie, 1918, p. 400.

*C. calicatifforme* Kotlán, 1919, p. 9; 1919a, p. 559.

*C. nanum* Ihle, 1919, p. 720.

An der Identität dieser 3 Arten kann kein Zweifel bestehen. Die Beschreibungen und Maße stimmen ganz gut überein, wie aus folgender Tabelle hervorgeht:

	<i>C. longibursatum</i>	<i>C. calicatifforme</i>	<i>C. nanum</i>
Länge des ♂	4,8–5,5 mm	5,5–6,8 mm	6 mm
„maximale“ Dicke des ♂	4,7–5,7 „	6,5–7,8 „	6–7 mm
„maximale“ Dicke des ♀	18	14–16	18
„maximale“ Dicke des äußeren Blätterkrone	248–292 $\mu$	306–340 $\mu$	285–330 $\mu$
Länge des Oesophagus	51–73 „	—	55–70 „
Abstand Vulva-Anus	95–124 „	—	100–120 „
Abstand Anus - Hinterende ♀			

Diese Art ist sehr gut charakterisiert durch die Gestalt der Mundkapsel, den niedrigen Mundkragen, die außerordentliche Länge des mittleren Lappens der Bursa und durch das gerade Hinterende des ♀. Auch die von Yorke und Macfie beschriebenen, kleinen Papillen auf den Anhängen des Genitalconus, welche ich in meiner vorläufigen Beschreibung nicht erwähnt habe, sind bei den von mir untersuchten Exemplaren vorhanden.

#### *Poterlostomum*.

*Poterlostomum* Quiel, 1919, p. 466.

*Hexodontostomum* Ihle, 1920, p. 43.

Zu den Merkmalen, auf welche diese Gattung gegründet wurde, gehörte das Vorkommen von 6 sehr großen Elementen in der inneren Blätterkrone bei *P. imparidentatum*. Nachdem wir aber in *Cylicostomum Rátzii* Kotlán eine sehr nahe verwandte Form kennen gelernt haben, bei welcher alle Elemente der inneren Blätterkrone dieselbe Größe besitzen, hat die bedeutende Größe der erwähnten 6 Ele-



mente ihren Wert als Gattungsmerkmal verloren. Die Gattung *Poteriostomum* ist nun durch folgende Merkmale ausgezeichnet: Elemente der äußeren Blätterkrone zahlreich; die der inneren groß. Submedianen Papillen gewölbt bis halbkugelig, mit sehr kurzer, abgerundeter Spitze. Die beiden Zweige des Hauptastes der dorsalen Rippe und die externo-dorsale Rippe stehen fast senkrecht auf dem gemeinsamen Stamm der dorsalen Rippen. Postero-laterale Rippe mit kurzem, nach hinten gerichtetem Fortsatz (Ihle, 1920, Fig. 4). (Diese Merkmale der Bursa gelten auch für *P. Rátzii*, wie sich aus einer mir von Dr. Kotlán freundlichst zugesandten Zeichnung ergibt.) Vulva und After weit voneinander entfernt. After weit vom Hinterende gelegen, welches keine Anschwellungen besitzt.

Zu diesem Genus gehören *P. imparidentatum* Quiel und *P. Rátzii* (Kotlán).

#### *Poteriostomum imparidentatum* Quiel.

*Poteriostomum imparidentatum* Quiel, 1919, p. 467.

*Poteriostomum pluridentatum* Quiel, 1919, p. 469.

*Hexodontostomum Markusi* Ihle, 1920, p. 43.

Auf die Identität von *Poteriostomum imparidentatum* Quiel mit *Hexodontostomum Markusi* habe ich selber schon hingewiesen (1920, p. 46). Das einzige beschriebene Exemplar von *P. pluridentatum* gehört meines Erachtens ebenfalls zu *P. imparidentatum*. Die innere Blätterkrone dieses Exemplares besteht aus sehr zahlreichen Elementen. Bei *P. imparidentatum* aber ist diese Zahl variabel. Quiel weist darauf hin, daß bei *P. imparidentatum* zwischen zwei großen Elementen der inneren Blätterkrone 7 kleinere vorkommen, bei dem Exemplar von *P. pluridentatum* je 10, aber an einer Stelle 8. Bei meinen Exemplaren von *P. imparidentatum* finde ich meistens 6 oder 7, bisweilen auch 8 kleinere Elemente zwischen 2 großen. Wahrscheinlich ist das Exemplar von *P. pluridentatum* also ein extremer Variant mit zahlreichen Elementen der inneren Blätterkrone.

#### *Poteriostomum Rátzii* (Kotlán).

*Cylicostomum Rátzii* Kotlán, 1919, p. 13.

*Cylicnostomum Rátzii* Kotlán, 1919a, p. 558.

Nach brieflicher Mitteilung betrachtet Dr. Kotlán *P. Rátzii* und *P. imparidentatum* als 2 Varietäten einer Art. Ich glaube aber, beide Formen als selbständige, aber nächstverwandte Arten betrachten zu dürfen. Bei *P. Rátzii* sind die Elemente der inneren Blätterkrone alle gleich groß, bei *P. imparidentatum* aber 6 dieser Elemente bedeutend größer als die übrigen. Außerdem sind, wenigstens bei den wenig zahlreichen, mir vorliegenden Exemplaren von *P. Rátzii*, die submedianen Papillen bedeutend niedriger als bei *P. imparidentatum*.

#### *Craterostomum* Boulenger.

Diese, kürzlich von Boulenger (1920a, p. 105) begründete Gattung ist durch folgende Merkmale charakterisiert, wie ich nach einem Briefwechsel mit Herrn Kollegen Boulenger feststellen kann: Höhle der Mundkapsel vorn und hinten verengt. Mundkapselwand gleich hinter dem vorderen Rande verdickt<sup>1)</sup>. Elemente der äußeren Blätterkrone

1) Dieses Merkmal ergibt sich aus nach dem Erscheinen meiner Mitteilung (1920a) angefertigten Präparaten wie aus Fig. 7 von Boulenger (1920a).

groß und wenig zahlreich, die der inneren Krone breit und dem Vorderrand der Mundkapsel aufsitzend, zahlreicher als die der äußeren Krone. Dorsalrinne gut entwickelt. Rand der Bursa fein gezähnelte und ringsum geschlossen. Hinteres Körperende des ♀ spitz; After weit vom Hinterende, Vulva weit vom After entfernt.

Während ich anfänglich die von mir beschriebene Art dieser Gattung (*C. mucronatum*) zu *Cylicostomum* rechnete, stimme ich jetzt Boulenger bei und betrachte *Craterostomum* als selbständiges Genus, welches einerseits mit *Triodontophorus*, andererseits mit *Cylicostomum* verwandt ist. Mit erstgenannter Gattung stimmt *Craterostomum* überein in der Gestalt der Mundkapsel und der Elemente der inneren Blätterkrone, im Besitz einer ringsum geschlossenen, am Rande gezähnelten Bursa und in der Gestalt des Hinterendes des ♀. Diese Verwandtschaft mit *Triodontophorus* wird besonders von Boulenger betont. Andererseits unterscheidet *Craterostomum* sich von letztgenannter Gattung und nähert sich *Cylicostomum* durch folgende Merkmale: Die Zahl der Elemente der äußeren Blätterkrone ist viel kleiner als bei *Triodontophorus* und kleiner als die der Elemente der inneren Krone, während bei *Triodontophorus* die Elemente beider Kronen einander in Zahl und Anordnung entsprechen, ein wichtiges Merkmal letztgenannter Gattung; die 3 Zähne am Boden der Mundkapsel fehlen bei *Craterostomum* und die submedianen Papillen bestehen deutlich aus 2 Teilen.

Zu dieser Gattung gehören:

*C. tenuicauda* Boulenger, 1920 a, p. 105 (Zebra).

*C. mucronatum* (Ihle) = *Cylicostomum mucronatum* Ihle, 1920 a, p. 132.

*C. acuticaudatum* (Kotlán) = *Cylicostomum acuticaudatum* Kotlán, 1919, p. 12.

Diese 3 Arten sind einander jedenfalls sehr nahe verwandt. Ich habe Exemplare von *C. mucronatum* an Herrn Prof. Boulenger gesandt, der nach Untersuchung zum Ergebnis kam, daß diese Art nicht identisch ist mit *C. tenuicauda*. Sie unterscheiden sich voneinander durch die Gestalt der Elemente der äußeren Blätterkrone; außerdem kann ich bei *C. mucronatum* den Ursprung der Elemente der äußeren Blätterkrone nicht bis zu den Elementen der inneren Krone verfolgen, wie Boulenger für *C. tenuicauda* abbildet. Ich halte *C. mucronatum* und *C. acuticaudatum* jetzt ebenfalls für spezifisch verschieden (cf. dagegen Ihle, 1920 d, p. LXXVII).

	<i>C. acuticaudatum</i>	<i>C. tenuicauda</i>	<i>C. mucronatum</i>
Länge des ♂	9,5 mm	—	6,5 mm
"    "    ♀	9—11 mm	4—5,5 mm	8 mm
Gestalt der Elemente der äußeren Blätterkrone	spitz	spitz	trapezförmig
Zahl der Elemente der äußeren Blätterkrone	6—8	9	8
Zahl der Elemente der inneren Blätterkrone	12—16	18	24—25
Länge des Oesophagus	520—590 µ	370—400 µ	375—400 µ
Abstand Vulva—Anus	760—850 "	± 280—300 "	480—570 "
Abstand Anus—hinteres Körperende	510—590 "	250—270 "	425—535 "
Erste Abt. Orig. Bd. 85.	Heft 4.		18

Die wichtigsten Merkmale der 3 Arten habe ich in vorstehender Tabelle zusammengefaßt. Es sei bemerkt, daß Boulenger nur unreife Exemplare untersucht hat.

Auf die Uebereinstimmung zwischen *C. tenuicauda* und *C. acuticaudatum* in der Gestalt der Elemente der äußeren Blätterkrone und in der geringen Zahl von Elementen der inneren Blätterkrone sei hingewiesen. Es scheint mir deshalb auch nicht gänzlich ausgeschlossen zu sein, daß beide Arten identisch sind. *C. acuticaudatum* ist mir aber nur aus einer deutschen Uebersetzung von Kotláns, in ungarischer Sprache geschriebenen Beschreibung (ohne Figuren) bekannt.

#### Literatur.

- Boulenger, C. L., Sclerostome parasites of the horse in England. II. New species of the genus *Cylichnostomum*. (Parasitol. Vol. 9. 1917.)  
 —, Sclerostomes of the donkey in Zanzibar and East Africa. (Ibid. Vol. 12. 1920.)  
 —, On some Nematode parasites of the zebra. (Ibid. 1920 a.)  
 Ihle, J. E. W., *Cylicostomum nanum*, een nieuwe Strongylide van het paard. (Tijdsch. v. Diergeneesk. Dl. 46. 1919.)  
 —, *Hexodontostomum Markusi* n. gen., n. sp., eine neue Strongylide des Pferdes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920.)  
 —, Eine neue *Cylicostomum*-Art (*C. mucronatum*) aus dem Darm des Pferdes. (Ebenda. 1920 a.)  
 —, Een nieuwe *Cylicostomum*-soort (*C. brevicapsulatum*) uit den darm van het paard. (Tijdschr. v. Diergeneesk. Dl. 47. 1920 b.)  
 —, *Cylicostomum ultrajectinum*, een nieuwe Strongylide uit den darm van het paard. (Ibid. 1920 c.)  
 —, Tijdschr. Ned. Dierk. Ver. (2). Dl. 18. 1920 d.)  
 —, *Cylicostomum brevicapsulatum* n. sp., eine neue Strongylide aus dem Darm des Pferdes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920 e.)  
 Kotlán, A., Die in ungarischen Pferden vorkommenden Sclerostomiden, mit besonderer Rücksicht auf das Genus *Cylicostomum*. [Ungar.] (Különlenyomat a Közlemények az összehasonlító élet-és Kórtan Kőreből. evi 15. 1919.)  
 —, Beitrag zur Helminthologie Ungarns. 1. Neue Sclerostomiden aus dem Pferd. Vorläuf. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919 a.)  
 Lane, C., Bursate Nematodes from the Indian Elephant. (Ind. Journ. med. Res. Vol. 2. 1914.)  
 Leiper, R. T., A new *Cylicostome* worm from the horse in London. (Veterin. Journ. Vol. 69. 1913.)  
 Looss, A., The Sclerostomidae of horses and donkeys in Egypt. (Rec. Egypt. Govern. School of Med. 1901. [1902.])  
 Quiel, G., *Poteriostomum* n. g., eine neue, beim Pferde parasitierende Nematodengattung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919.)  
 Yorke, W., and Macfie, J. W. S., Strongylidae in horses. I. *Cylicostomum longibursatum* sp. n., II. *C. minutum* sp. n., III. *C. nassatum* Looss, var. *parvum*. (Ann. trop. Med. Parasit. Vol. 11. 1918.)  
 —, VI. *C. pseudo-catinatum* sp. n. (Ibid. Vol. 12. 1919.)  
 —, VII. *C. pateratum* sp. n. (Ibid. Vol. 13. 1919 a.)

#### Nachschrift.

Nachdem das Manuskript schon der Redaktion zugesandt war, erhielt ich einen Aufsatz von Fräulein M. Turner (On the Nematode Parasites of a Chapman's Zebra, Proc. Zoolog. Soc. London for 1919, erschienen Februar 1920), in welchem ausführlich eine neue Art, *Cylichnostomum zebrae*, beschrieben wird, gefunden im Darm eines Zebra, welches 10 Jahre in dem Londoner Tiergarten gelebt hat. Während der Korrektur fügt die Autorin richtig hinzu, daß diese Art mit *Hexodontostomum Markusi* Ihle identisch ist; sie soll also *Poteriostomum imparidentatum* Quiel heißen.

Von Dr. A. Kotlán erhielt ich eine im Juni 1920 erschienene, in ungarischer Sprache geschriebene Abhandlung (Allatorvosi Lapok,

1920), in welcher folgende neue Formen beschrieben werden: *Cylicostomum leptostomum*, *C. sagittatum*, *C. hybridum*, *C. elongatum* var. *macrobursatum*, *C. calicatum* var. *minus*.

Durch die briefliche Auskunft des Autors kann ich über diese Arten folgendes mitteilen:

*C. leptostomum*. ♂ 6 mm, ♀ 7—8 mm lang, mit einer dünnwandigen, ziemlich breiten Mundkapsel, gehört vielleicht zur IV. Gruppe.

*C. sagittatum*. ♂ 10—11 mm, ♀ 12—12,5 mm lang, Mundkapsel der von *C. labiatum* ähnlich; Anhänge des Genitalconus denen von *C. coronatum* ähnlich. Hinterende des ♀ dem von *C. elongatum* ähnlich. Gehört zur III. Gruppe.

*C. hybridum*. ♂ 9—9,5 mm, ♀ 10—10,5 mm lang, gehört wahrscheinlich zur IV. Gruppe.

*C. elongatum* var. *macrobursatum* ist, wie Dr. Kotlán mir mitteilt, mit *C. elongatum* var. *Kotláni* Ihle identisch. Da meine Beschreibung im Mai 1920 veröffentlicht wurde, soll diese Varietät *Kotláni* Ihle heißen.

*C. calicatum* var. *minus* ist nach der Angabe von Kotlán mit dem schon 1918 beschriebenen *C. minutum* Yorke et Macfie identisch. Außerdem hat diese Form wohl die Bedeutung einer selbständigen Art. Gültig ist also nur der Name der englischen Autoren.

*Nachdruck verboten.*

## Neue Parasiten in Haut und Kiemen von Fischen.

Von **Marianne Plehn.**

München. Biolog. Versuchsanstalt für Fischerei.

Mit 1 Tafel.

### 1. *Ichthyocytrium vulgare*.

Zum Zweck einer ersten orientierenden Untersuchung von Kiemen und Haut pflegt man mit einem stumpfen Instrument etwas Epithel abzuschaben und frisch im Quetschpräparat im Mikroskop zu betrachten. Da gehören bei Karpfen zum häufigsten pathologischen Befunde kugelige Zellen von sehr verschiedener Größe, die im Mittel etwa der eines Epithelzellkerns entspricht — sie sind also nur mit stärkerer Vergrößerung sichtbar —; sie erscheinen stark lichtbrechend und haben meist einen leicht gelblichen Ton, so daß sie sich deutlich von dem Zellbrei der Umgebung abheben.

Ein Kern ist nicht wahrnehmbar, dagegen enthalten die meisten Zellen eine wechselnde Menge kleiner Körnchen und eckiger Bröckchen, mitunter körniges Pigment. Meist liegen die Zellkugeln in Häufchen beisammen, mitunter sind sie gleich groß, oft aber auch sehr verschieden: Es können 20—30 in einem Haufen sein, oft sind sie weniger zahlreich; die größten liegen gewöhnlich einzeln.

Gar nicht selten sind die Parasiten in enormen Mengen vorhanden; die Fälle, wo ihre Anzahl bescheiden ist, sind noch viel häufiger. Daß bei gründlicher Untersuchung bei einem Karpfen gar nichts zu finden wäre, kommt — in Bayern wenigstens — nicht gerade oft vor.

Ist im frischen Abstrichpräparat nicht viel vom inneren Bau zu sehen, so lehrt auch vitale Färbung kaum Neues; bei Neutralrot- oder Methylenblaubehandlung färben sich die Körnchen des Zellinhalts so intensiv, daß der ganze Parasit als dunkler Klumpen erscheint. Zu seinem Studium sind also nur feine Schnitte brauchbar; ich habe solche mit verschiedenen Konservierungen und Färbungen hergestellt. Zur Konservierung sind viele der üblichen Flüssigkeiten gut verwendbar; zur Färbung nur wenige Farbstoffe; die meisten überfärben die Granula im Zelleib, wodurch der Kern verdeckt wird. Sehr geeignet erwies sich die Färbung mit Toluidinblau<sup>1)</sup>, bei der die Parasiten sich aufs beste vom Gewebe abheben; bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Zellkugeln rotviolett, das Gewebe blau, der Schleim rötlich und das Blut grünlich; bei gut gelungener Differenzierung läßt die Toluidinblaufärbung zahllose kleinste Parasiten erkennen, die man sonst übersehen würde. Doch ist die Toluidinblaufärbung nicht ganz rein elektiv und auch wenig dauerhaft; der rote Ton, der ihren Hauptvorteil bildet, ist (ebenso wie das Rot der Giemsa-Färbung) nicht beständig; er verschwindet bei Auswaschen in Alkohol rasch und geht in Blau über. Wendet man statt des Alkohols zur Entwässerung Aceton an, so hält er sich besser; aber auch hier ist schnelle Behandlung zu empfehlen; besonders ist längerer Aufenthalt in wasserhaltigem Aceton unbedingt zu vermeiden. Ich spüle die gefärbten Schnitte gründlich in Wasser ab und bringe sie dann in reines Aceton, das nach kurzem Umschwenken gewechselt werden muß; dann in der üblichen Weise in Xylol und Balsam. Auch bei schnellem Arbeiten ist nicht jede Zelle zum Studium geeignet; einige sind überfärbt, andere ausgewaschen. Aber eine genügende Anzahl gibt doch instruktive Bilder. Recht charakteristisch sind auch Schnitte, die mit ammoniakalischem Karmin auf Glykogen gefärbt wurden (Bestsche Färbung). Die Parasiten enthalten reichlich Glykogen und unterscheiden sich dadurch scharf vom Gewebe des Wirtes. Der Färbung muß eine Konservierung in absolutem Alkohol oder einem stark alkoholischen Gemisch vorhergehen. Diese Flüssigkeiten erhalten die übrigen Zellelemente weniger gut; die Methode muß also durch andere ergänzt werden.

Diejenigen Parasiten, deren Größe gerade schon gestattet, eine Struktur schon zu erkennen, zeigen oft ein dunkles Pünktchen, von einem hellen Hof umgeben, den Kern (Tafelfig. 1a). Bei Toluidinblaufärbung erscheint er, je nach dem Grade der Auswaschung, mehr oder weniger rot; je kleiner die Zelle, um so mehr überwiegt der rote Ton; der Kern scheint in den kleinsten Zellen am kompaktesten zu sein. Etwas größere Zellen enthalten Granula, die noch ausgesprochener rot sind als der Kern, und die diesen Ton noch etwas besser festhalten als er. An günstigen Stellen trifft man daher Parasiten, in denen die Granula deutlich vom Kern zu unterscheiden sind. Bei weiterem Heranwachsen tritt eine Kernmembran hervor (Tafelfig. 1b u. c). Im Zelleib erscheint ein lockeres Gerüst, die Granula werden zahlreicher und größer; sie färben sich teils rot, teils blau; die Zellwand wird immer derber; zuweilen, wenn etwas Inhalt ausgetreten war, sieht sie wie geknittert aus.

1)	3 g	Toluidinblau	} vor Gebrauch auf das 10-fache mit Wasser verdünnen.
	2 "	Karbol	
	50 "	Glyzerin	
	300 "	Wasser	

In manchen der größten Parasiten ist nicht nur ein einziger Kern zu sehen, sondern eine größere Zahl dunkler Pünktchen mit hellem Hof (Tafelfig. 1 d). Dies betrachte ich als Vorstufe zu multipler Teilung; sie leitet zum nächsten Stadium über: einer zerklüfteten Kugel (Tafelfig. 1 e). Ihre Teilstücke runden sich ab, wodurch dann die Häufchen kleinster Parasiten entstehen, deren man sehr viele antrifft (Tafelfig. 1 f). Sie mögen Eigenbeweglichkeit besitzen und die Infektion verbreiten. In anderen Fällen scheinen sie an Ort und Stelle heranzuwachsen, und zwar in ungleichem Tempo; dafür sprechen die Parasitengruppen, in denen kleinere und größere eng beisammen liegen (Tafelfig. 2).

Ich habe keine Stadien gesehen, die sich nicht in diesen überaus einfachen Entwicklungskreis einreihen ließen. An eine bestimmte Jahreszeit ist die Infektion nicht gebunden; in welchem Monat man die Untersuchung auch vornimmt, das Bild ist stets das gleiche; immer kann man alle hier beschriebenen Parasitenformen finden.

Die kleinsten, einzelnen liegen intrazellulär; die befallene Zelle vergrößert sich, ihr Kern schwillt an; dann löst die Zelle sich auf, während ihr Kern, obwohl er degeneriert, noch lange erkennbar bleibt. Der heranwachsende Parasit oder die Gruppe, in die er zerfallen ist, liegt dann in einer Lücke des Gewebes, an deren Rand der Kernrest gedrängt ist (Tafelfig. 2); einige Trümmer vom zugrunde gegangenen Zelleib sind zuweilen auch noch in der Lücke zu erkennen.

Am stärksten pflügt die Infektion an den Kanten des Kiemenblättchens zu sein, und zwar an der äußeren Kante noch stärker als an der inneren. Auch das Epithel des Bogens ist oft stark befallen; aber auch die respiratorischen Fältchen führen in ihrer Epithelschicht Parasiten, und hier dürften dieselben den weitaus größten Schaden anrichten. Uebrigens sind sie nicht auf die Kiemen beschränkt, sondern bewohnen auch die Haut, wo sie aber viel weniger zahlreich sind und wohl keine pathogene Bedeutung haben.

Irgendwelche Reaktion des Gewebes, Abkapselung, entzündliche Wucherung oder Leukozytenansammlung findet nicht statt, weder auf der Haut noch auf den Kiemen; aber durch das Absterben der infizierten Zellen kann das Gewebe bis zum völligen Zerfall aufgelockert werden (Tafelfig. 2). Tritt das auf den Kiemen in größeren Bezirken ein, so muß die Atmung natürlich leiden. Dies kann in solchem Maße geschehen, daß die Fische erkranken und absterben. Bei den überaus häufigen leichteren Infektionen ist ein Schaden nicht bemerkbar, doch darf man auch diese nicht ganz außer acht lassen, wenn man den Gesundheitszustand eines Fisches beurteilt. Auch eine geringe Beeinträchtigung der Atmung muß eine Schwächung der allgemeinen Widerstandskraft bedingen.

Hier, wie bei allen Krankheiten, ist die Brut bedeutend mehr gefährdet als die älteren Jahrgänge, darum ist es auch um dieser Parasiten willen ratsam, die Laichfische möglichst schnell aus den Laichteichen zu entfernen. Kommt die ausschüpfende Brut mit den älteren gar nicht in Berührung, so wird die Gefahr der Ansteckung beseitigt oder doch vermindert.

Ein Mittel gegen die Krankheit ist noch nicht gefunden. Es wird unmöglich sein, den Parasiten, während er im Gewebe sitzt, abzutöten; denn jeder Eingriff, der geeignet wäre, ihn zu vernichten, würde auch das zarte Kiemenepithel zerstören, was für den Fisch verhängnisvoller wäre als die Infektion selbst.

Der Parasit dürfte zu den niedersten Pilzen gehören. Die ziemlich derbe Membran, der Glykogenehalt und das Wenige, was wir von seiner Entwicklung wissen, spricht zum mindesten nicht dagegen. Zwar kommt Glykogen bei allen bisher darauf untersuchten protozoischen Fischparasiten auch vor; es ist aber auch in Hefezellen und in verschiedenen niederen und höheren Pilzen nachgewiesen worden. Ich verglich das Verhalten gegen Farbstoffe mit dem bei einigen anderen niedersten Pflanzen, verschiedenen Hefearten und mit einer kleinen Chytridinee, einem Harpochytrium, das auf grünen Fadenalgen unserer Teiche schmarotzt; — es stimmte vollkommen überein. Insbesondere wurde das Toluidinblau herangezogen, dessen Anwendung sich für den neuen Parasiten so gut bewährt hat. Die Chytridinee und die Hefen nehmen den gleichen rötlich-violetten Farbton an, und seine Träger sind feine Körnchen hier wie dort.

Ich reihe den Parasiten den Oomyceten ein und stelle ihn, der Systematik v. Mindens<sup>1)</sup> folgend, zu den Chytridineae, wo er der Gattung Olpidium am nächsten kommt. — Die meisten Olpidien bewohnen Wasserpflanzen, doch sind einige auch als Parasiten auf Wassertieren bekannt (Protozoen, Rotatorien). Sie vermehren sich durch Schwärmer; solche sind bei den Fischparasiten ja noch nicht gesehen, doch ist wahrscheinlich, daß sie auch hier auftreten, und die Verbreitung auf Haut und Kiemen besorgen, sowie auch die Uebertragung von Fisch zu Fisch. Der Parasit, der meist auf Karpfen vorkommt, aber auch schon auf Schleien gesehen wurde, erhält den Namen

*Ichthyochytrium vulgare*.

## 2. *Mucophilus cyprini*.

Eine ziemlich seltene Erscheinung ist ein anderer Parasit der Karpfenkiemen, der bisher an Fischen aus Bayern und Mitteldeutschland beobachtet worden ist, womit nicht gesagt sein soll, daß er nicht auch anderswo vorkäme. Auch dieser Parasit lebt nur im Epithel, auch er bewohnt mit Vorliebe die Kanten der Kiemenblättchen, tritt aber bei stärkeren Infektionen auch in der Haut des Bogens und auf den respiratorischen Fältchen in Mengen auf. In der Haut ist er nicht zu finden, sondern bleibt auf die Kiemen beschränkt; er hat offenbar ein besonders starkes Sauerstoffbedürfnis; auch er lebt intrazellulär. Zunächst erscheint er als kleinstes kugeliges Körperchen, das sich im frischen Präparat wenig vom Zellplasma abhebt, da es gleichmäßig granuliert ist und keine Membran besitzt; die Wirkung auf die infizierte Zelle ist sehr auffallend. Dieselbe vergrößert sich sofort und wächst zunächst viel stärker, als das Volumen des Parasiten es erfordern würde. Jede infizierte Epithelzelle sondert Schleim ab. Anfangs habe ich diese Tatsache so aufgefaßt, daß ausschließlich Schleimzellen befallen würden; da aber das gesamte Kiemenepithel reichlich infizierte Schleimzellen führen kann, auch in Regionen, die beim gesunden Fisch kaum Schleim bilden, wie die respiratorischen Fältchen, nehme ich jetzt an, daß alle Kiemenepithelzellen zu Schleimzellen werden können (wie die Darmepithelzellen zu Becherzellen). Das Wachstum der hypertrophierenden Zelle und die Menge des Schleims ist erstaunlich groß; der Durchmesser kann 60  $\mu$  übertreffen; aber der Parasit wächst noch stärker. Während ihm anfangs ein beträchtlicher Raum in der Zelle verbleibt, füllt er sie schließlich

<sup>1)</sup> v. Minden, Pilze. Kryptogamenflora der Provinz Brandenburg.

ganz aus; bei noch weiterem Wachstum wird sie gesprengt und der Parasit wird frei. Die Parasiten aller Größen bestehen vielfach, wie die jüngsten Stadien, aus einer völlig gleichförmigen, feinen, granulierten Masse. Eine Membran tritt niemals auf; stets sind die kleinsten am stärksten färbbar, und zwar nehmen sie sehr verschiedene Farbstoffe bereitwillig an; je größer sie sind, um so blasser wird die Farbe; die allergrößten erscheinen stets nur leicht gelblich; wahrscheinlich sind sie aufgequollen und abgestorben.

Träfe man immer nur diese homogene Erscheinungsform an, so dürfte man bezweifeln, daß es sich überhaupt um Organismen handele. Ich habe lange erwogen, ob nicht Zelldegeneration in Frage käme und ob die kugeligen Einschlüsse vielleicht Produkte eines pathologischen Stoffwechsels darstellten. Daß in der Fischhaut auf solche Art sehr eigentümliche Gebilde entstehen können, wissen wir durch die Arbeiten über Lymphocystis<sup>1)</sup>. Aber es sprechen andere Befunde, die auch sehr häufig sind, so entschieden für die Parasitennatur, daß die Zweifel weichen mußten. In sehr zahlreichen Präparaten findet sich nämlich ein tief gefärbtes Körperchen in einem hellen Hof, das man nicht anders deuten kann denn als Kern (Tafelfig. 3 a, b u. d). Nicht ganz selten sind 2, hie und da auch 3 und 4 solcher Kerne vorhanden. Etwas häufiger als diese wenig kernigen Zellen sind solche mit zahlreichen, stark färbbaren Körnchen, die sich wie mehr oder weniger fein verteiltes Chromatin ausnehmen. Zuweilen enthält der Parasit Vakuolen, die eine färbbare Membran besitzen (Tafelfig. 3 c). Oft sind diese kugelig, dann kann man sie als Tröpfchen betrachten, die durch eine vermutlich flüssige Grenzschicht vom Zellplasma gesondert sind; aber sie nehmen auch mannigfache andere Gestalt an, vom Ellipsoid bis zum kleinen Würstchen, das eingeschnürt, gewunden, in einen Zipfel verlängert sein kann. Diese sehr verschieden geformten Gebilde sind auch im frischen Quetschpräparat zu sehen; sie erscheinen hellglänzend im trüben oder granulierten Zelleib. Bei Bildern wie in Tafelfig. 3 e, wo eine größere Zahl allerkleinster, kurzer Stäbchen erscheint, könnte man an multiple Kernbildung denken; doch handelt es sich hier wohl um den Anfang des Prozesses, der zu Stadien wie Tafelfig. 3 c führt. Wir werden in den scharf konturierten Bläschen nicht Kerne vermuten können; ihre Natur ist unklar.

Aus diesen Bildern einen Entwicklungskreis zu konstruieren, ist nicht möglich. Vor allem fehlen Teilungsstadien, aus denen die jüngsten Formen hervorgegangen zu denken wären. Tafelfig. 3 d täuscht wohl nur eine Teilung vor. Es ist anzunehmen, daß die größten Parasiten sich im Wasser weiter entwickeln, nachdem sie frei geworden sind; wahrscheinlich entstehen kleine Schwärmer, die die Infektion besorgen.

Es wurden Uebertragungsversuche im Aquarium angestellt, die mehrmals ergebnislos verliefen, aber doch auch einige Male gelangen. In den sauberen, mit Leitungswasser gespeisten Becken waren niedere Tiere, die als Zwischenwirt in Betracht kommen könnten, nicht vorhanden; die Infektion muß also direkt von Fisch zu Fisch geschehen. Einige stark infizierte Karpfchen wurden mit einer Anzahl besonders kräftiger von anderer Herkunft zusammengesetzt; mehrere der letzteren hatten bei gründlicher mikroskopischer Untersuchung keine Infektion

<sup>1)</sup> Weißenberg, Ueber infektiöse Zellhypertrophie bei Fischen. (Sitzungsber. k. pr. Akad. Wiss. Bd. 30. 1914.) — Joseph, Untersuchungen über Lymphocystis. (Arch. f. Protistenk. Bd. 38. 1918.)



gezeigt. Von der 3. Woche an erwies sich hier und da einer der gesunden Versuchsfische als infiziert. Daß es sich wirklich um eine frische Infektion handelte, und daß nicht doch etwa vorher anwesende Parasiten der Aufmerksamkeit entgangen waren, schließe ich daraus, daß sich nur junge, kleine Parasiten vorfanden. — Bei natürlicher Erkrankung findet man stets die verschiedensten Größen durcheinanderliegend an.

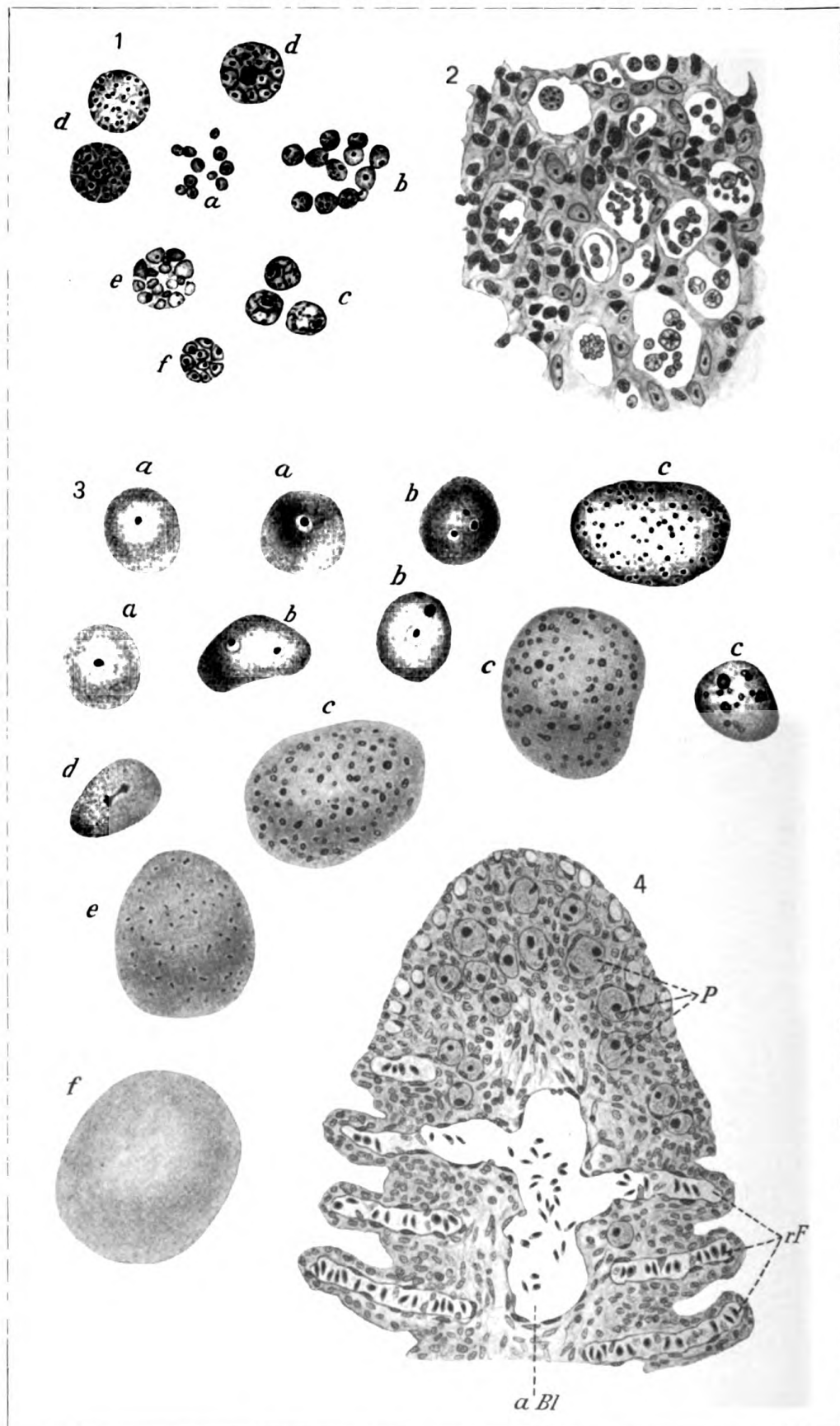
Auf Karpfen, die älter als 2 Jahre sind, ist der Parasit selten zu finden; nur unter den jungen Karpfchen bis zu 1 Jahr veranlaßt er Epidemien. Allerdings führen nur ganz schwere Infektionen zum Tode. Nicht selten sieht man eine ziemlich beträchtliche Parasitenzahl, und ihr Träger ist anscheinend ganz munter. Es ist also die mechanische Beeinträchtigung des Gaswechsels welche die Todesursache ist; vermutlich wird nicht ein Toxin abgeschieden. Aber auch eine leichtere Infektion wird — wie bei *Ichthyocytrium* — doch nicht ganz gleichgültig für die Gesundheit sein.

Zu jeder Jahreszeit findet man alle bisher bekannten Parasitenstadien; größere Sterben sah ich nur im Winter, was so zu erklären sein dürfte, daß in der Winterung Sauerstoffmangel am häufigsten ist, und daß ungenügende Funktion der Kiemen daher im Winter am verhängnisvollsten wird.

Durch verschiedene Färbungen läßt sich der Parasit überaus scharf von der Wirtszelle abheben. Mit Heidenhain-Hämatoxylin und mit Giemsa bleibt der Schleim der Zelle fast ungefärbt; der Parasit tritt also in einem hellen Raum, der den gequollenen Kern der Wirtszelle enthält, vollkommen klar hervor. Instruktiver noch sind die Bilder, die auch den massenhaft produzierten Schleim sehen lassen. Dazu dienen Hämatoxylin (nach Delafield u. a.), in dem der Schleim stark rötlich wird, der Parasit mehr blauviolett; Mallory — da erscheint der Parasit rot; der Ton schwankt von gelbrot bei den kleinsten bis zu einem trüben graurot bei den großen Formen; der Schleim ist lichtblau. — Ein eigentümlicher Antagonismus tritt zutage, wenn man Hämatoxylin und die Bestsche Färbung mit ammoniakalischem Karmin anwendet. Diese zeigt bei vielen protozoischen Parasiten und auch bei *Ichthyocytrium* beträchtlichen Gehalt an Glykogen, das sich in scharf begrenzten Schollen darstellt. Hier fehlen solche Schollen, die rote Farbe ist diffus, bald heller, bald dunkler; gewöhnlich erscheint dann der Schleim durch das Hämatoxylin der Vorfärbung blau. Bei einigen Zellen ist es aber gerade umgekehrt: der Parasit wird blau und der Schleim rot. So differenzgefärbte Zellen können dicht nebeneinander liegen. Daß Schleim verschiedene Reaktion haben kann, und demgemäß bald die basische, bald die saure Farbe bevorzugt, ist bekannt. Auffallender ist, daß auch der Parasit sich so verhält. Der Stoffwechsel, der zwischen ihm und der Schleimhaut besteht, wird dadurch augenfällig.

Der Parasit wird bei den Protozoen nicht unterzubringen sein; auch bei den Protophyten sind näher verwandte Formen nicht bekannt. Doch erscheint es mir noch am ehesten tunlich, ihn zu den niedersten Pilzen zu stellen, den Chytridiaceae. Diese Gruppe umschließt so Verschiedenartiges und so vieles noch ungenügend Bekannte, daß man hoffen kann, es werden sich auch diesem Parasiten darin später einmal Verwandte zugesellen. Er erhält den Namen *Mucophilus cyprini*.





Verlag von Gustav Fischer in Jena.

**Tafelerklärung.**

Fig. 1. *Ichthyocytrium vulgare*. Aus dem Kiemenepithel des Karpfens. *a* = jüngste Stadien; *b, c* = heranwachsende Parasiten; *d, e, f* = multiple Teilung. Vergr. 900.

Fig. 2. Schnitt durch das Epithel einer Karpfenkieme. Infektion mit *Ichthyocytrium vulgare*. Auflockerung des Gewebes. Parasiten in den Lücken: Vergr. 300.

Fig. 3. *Mucophilus cyprini*. Verschiedene Entwicklungsstadien. Vergr. 400.

Fig. 4. Längsschnitt durch ein Blättchen der Karpfenkieme. Frische Infektion mit *Mucophilus cyprini*. *P* = junge Parasiten in vergrößerten Schleimzellen; *A Bl* = Arterie des Blättchens; *r F* = respiratorische Fältchen. Vergr. 180.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Technik der Komplementgewinnung mittels Herzpunktion.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.]

Von **Tr. Baumgärtel**, Leiter der serologischen Abteilung.

Mit 1 Abbildung im Text.

Das übliche Verfahren der Komplementgewinnung besteht in der völligen Entblutung der Meerschweinchen aus der durch einen Scherenschlag freigelegten und hierauf durchtrennten Carotis. Zur Tierersparnis empfiehlt es sich, diesen Eingriff im Aetherrausch vorzunehmen und dabei so zu verfahren, daß zunächst eine der beiden Karotiden freipräpariert und dann entweder punktiert oder nach vorheriger Abklemmung einer kleineren Gefäßstrecke durchschnitten wird. Auf diese Weise gelingt es unschwer, eine der Tiergröße entsprechende Blutmenge abzuziehen, um nach Gefäßunterbindung, Hautnaht und Ersatz des entnommenen Blutes durch physiol. NaCl-Lösung im Verlauf von einigen Wochen die andere Carotis zur Blutentnahme benutzen zu können. Unter Vakuum kann die Blutentziehung auch an kleineren Gefäßen mit Erfolg vorgenommen werden; am besten eignen sich hierzu die Ohrrendvenen, welche zunächst mehrfach angestochen und dann mittels luftdicht aufgesetzter Saugglocke der mit einer Wasserstrahlpumpe erzielten Druckverminderung ausgesetzt werden.

Jedes dieser Verfahren hat natürlich seine Vor- und Nachteile. Wofern es sich um die einmalige Gewinnung von ca. 10,0 ccm Serum ohne Rücksicht auf Keimfreiheit handelt, wird die völlige Entblutung eines kleinen Meerschweinchens am Platze sein, während bei Bedarf einer gleich großen Menge keimfreien Komplements nur die Eröffnung der aseptisch freigelegten Carotis zum Ziele führt. Zur mehrmaligen Gewinnung einer größeren Serummenge ist an kräftigen Meerschweinchen die Blutentziehung unter vermindertem Druck vorzunehmen.

Im Anschluß an diese Erwägungen scheint die Komplementgewinnung mittels Herzpunktion empfehlenswert.

Nach eigenen Erfahrungen an über 2000 Herzpunktionen kann folgende Technik als bewährt empfohlen werden: Zur Punktion wird das Meerschweinchen in Rückenlage gehalten, und zwar werden hierzu die Hinterbeine in der Längsrichtung des Körpers gestreckt, die Vorderbeine senkrecht dazu gespreizt und der Kopf nach hinten auf die Unterlage aufgelegt. Zweckmäßig wird das linke Vorderbein zu einem rechten Winkel gebeugt und in der Richtung des Kopfes gehalten. (Vgl.

Röntgenphotogramm<sup>1)</sup>. Der Erfolg der Punktion hängt nun lediglich davon ab, daß die Lage des Herzens möglichst schnell durch Abtasten der Brust mit linkem Daumen und Zeigefinger ermittelt und dann durch diesen letzteren auf der rechten Brustseite für die ganze Dauer des Eingriffes bezeichnet wird. Ist die Herzlage bestimmt, so werden die Haare des entsprechenden linken Brustteils oberflächlich entfernt und die betreffende Stelle mittels Alkohol desinfiziert. Hierauf erfolgt der Einstich parallel zur Unterlage senkrecht zur Längsrichtung des Körpers, also auf die Mitte der linken Zeigefingerbeere. Am besten eignet sich hierzu eine 5,0 ccm Luersche Glasspritze mit nicht zu enger Kanüle. Nachdem die Spritze widerstandslos beim ersten Einstich in die Brusthöhle eingedrungen ist, stößt sie bei weiterem Vorgehen auf die Herz- wand und dringt, wie beim Einstich genau zu fühlen ist, nach Ueber-

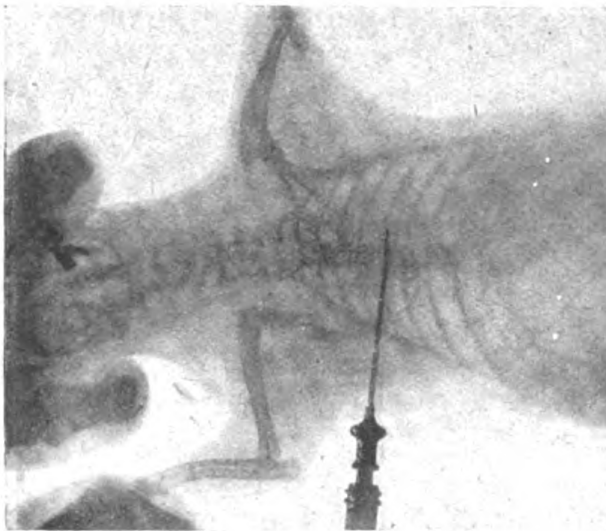


Fig. 1.

windung dieses Widerstandes ins Herz. Im gleichen Augenblick strömt das Blut in den Pavillon der Spritze und treibt den Glasstempel derselben selbsttätig zurück. Natürlich empfiehlt es sich, das weitere Einströmen des Herzblutes durch langsames, gleichmäßiges Zurückziehen des Stempels zu unterstützen, um bei kleineren Meerschweinchen auf diese Weise zunächst 5,0 ccm, bei größeren durch Spritzenwechsel weitere 5,0 ccm ab-zuziehen. In jedem Fall ist das entnommene Blut sofort durch subkutane Einspritzung keim freier, phys. NaCl-Lösung zu ersetzen.

Erfahrungsgemäß gelingt der Einstich am häufigsten in die linke Herzkammer. Das hieraus gewonnene Blut zeigt eine hellrote Farbe und kann auch kleineren Tieren, ohne dieselben zu gefährden, bis zu 8,0 ccm entnommen werden, während man bei der Gewinnung venösen Blutes offenbar in die rechte Herzkammer eingedrungen ist und dann auch bei größeren Tieren praktisch nur eine Blutmenge bis zu 5,0 ccm entziehen kann. Wie meist bei diesem unrichtigen Einstich, so strömt auch bei völlig verfehltm Eingriff (Gefäß- bzw. Lungenverletzung) das Blut nicht selbsttätig in die Punktionsspritze; etwa durch Ansaugen gewonnenes Blut ist regelmäßig mit Blutblasen und Schaum durchsetzt, wohingegen bei Gewinnung arteriellen Blutes die ganze Spritze bis auf eine kleine Luftblase (aus der Kanüle) mit Blut erfüllt ist. Keinesfalls darf bei der Punktion dunkelroten oder gar schaumigen Blutes durch weiteres Zurückziehen des Spritzenstempels der Innendruck herabgesetzt werden; in solchen Fällen empfiehlt es sich,

1) Für die Ausführung der Röntgenaufnahme während der Punktion bin ich Herrn Dr. A. Herzog, Assistent an der Strahlenabteilung der Universitätsfrauenklinik München, zu bestem Danke verpflichtet.

das Meerschweinchen einige Minuten umherlaufen zu lassen und dann die Punktion von neuem vorzunehmen.

Der bei weitem größte Teil der punktierten Tiere verträgt den Eingriff ohne irgendwelche äußerlich erkennbaren Störungen; vereinzelt treten Schwächezustände auf, von denen sich die Tiere aber in wenigen Minuten wieder erholen. Bei Durchstechung des Herzens oder Verletzung eines größeren Blutgefäßes fallen die Tiere sofort nach der Punktion in eine schwere Ohnmacht und gehen an innerer Verblutung kurz nach der Punktion zugrunde. In solchen Fällen, welche sofort zu erkennen sind, empfiehlt es sich, den Brustkorb gleich zu eröffnen und das teilweise schon geronnene Blut aufzufangen. Mitunter werden auch Lähmungserscheinungen, und zwar vornehmlich der hinteren Gliedmaßen, beobachtet; auch sie vergehen meist schnell, wofern es sich nicht gleichzeitig um eine durch verfehlten Einstich bedingte Blutgefäßverletzung handelt.

Bei einigem Geschick gelingt es leicht, die vorbeschriebene Punktions-technik zu erlernen und dieselbe auch an kleineren Meerschweinchen zur Gewinnung einer verhältnismäßig großen Blutmenge vorzunehmen. Ein wesentlicher Vorzug dieser Methode besteht darin, daß ein und dasselbe Meerschweinchen in 2—3-wöchentlichen Zwischenräumen mehrfach punktiert werden kann. So wurden an 440 Meerschweinchen insgesamt 2000 Herzpunktionen mit einem durch verfehlten Einstich bedingten Verlust von 192 Tieren, d. h. 9,6 Proz. der gesamten Herzpunktionen, ausgeführt. Wie die folgende Tabelle zeigt, wurden 338 dieser Tiere bis zu 10mal punktiert:

	Zahl der an einem Meerschweinchen vorgenommenen Punktionen									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Zahl der Tiere	102	49	50	70	54	33	41	14	27	27

Das durch die vorschriftsmäßige Punktion gewonnene Blut wird zur Vermeidung einer Schaumbildung, welche das spätere Abzentrifugieren des Blutkuchens stört, nicht durch die Kanüle, sondern nach deren Abnahme in ein keimfreies Zentrifugenröhrchen herausgespritzt und bei Zimmertemperatur bis zur vollzogenen Gerinnung stehen gelassen, bevor es zentrifugiert wird. Bis zum Verbrauch empfiehlt es sich, das Serum über dem Blutkuchen stehen zu lassen.

Im Vergleich zu den eingangs genannten Gewinnungsmethoden des Meerschweinchenserums bietet die Herzpunktion eine Reihe von Vorteilen. Vor allem genügt dieses Verfahren insofern den Anforderungen der Praxis, als diese einfache und ergiebige Entziehung keimfreien Blutes auch an kleineren, sowie bereits punktierten Meerschweinchen mehrfach mit Erfolg vorgenommen werden kann. Bei Benutzung eines eigens zur Punktion gehaltenen Meerschweinchenbestandes ist auf diese Weise die Möglichkeit gegeben, durch Auswahl mehr oder weniger mehrfach punktierter Tiere zu allen Versuchszwecken eine beliebige Menge billigen, frischen und keimfreien Komplements zur Verfügung zu haben.

*Nachdruck verboten*

## Untersuchungen über die Grundlagen des Bolus alba-Verfahrens.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Leiter: Professor Reiter) des Hygienischen Instituts der Universität Rostock (Direktor: Professor v. Wasielewski).]

Von Hans Reiter und Franz Meyer.

Die Verwendung von Tierkohle zur Behandlung von Typhusbazillenträgern hatte Kuhn veranlaßt, den Einfluß von Tierkohle auf Bakterien zu prüfen; hierbei glaubte er gefunden zu haben, daß die Adsorptionskraft der Kohle gegenüber Typhus- und Paratyphusbazillen größer sei, als gegenüber Coli-Bazillen. Diese, unter dem Mikroskop gemachte Beobachtung wurde von Kuhn sodann praktisch zum Nachweis von Typhusbazillen im Stuhl und Urin angewendet. Hierzu standen in Straßburg der bakteriologischen Station die Stühle zahlreicher Typhusbazillenträger zur Verfügung, die damals wegen der Zugehörigkeit des Elsaß zum Kriegsgebiet in geschlossenen Anstalten streng isoliert waren.

Die Bearbeitung des Materials geschah in folgender Weise: Die eingesandten Stühle wurden in den Versandröhrchen mit physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch ein dünnes Wattefilter filtriert, so daß die durchtropfende Aufschwemmung frei von größeren Stuhlklumpen war. Etwa 10 ccm dieser Aufschwemmung versetzte man mit 0,04–0,08 Tierkohle und schüttelte kräftig durch. Urin wurde ohne weitere Vorbereitung mit Tierkohle behandelt; nach kurzem Stehen hatte sich ein Bodensatz gebildet, von dem man die überstehende Flüssigkeit durch eine Pipette absog. Der Bodensatz wurde dann auf Endo-Platten mittels Spatel ausgestrichen.

Kuhn stellte mehrere Versuchsreihen an, die hinsichtlich der Kohlenmenge, Zeit des Absetzens und Art der Ausstriche verschieden waren.

Das Ergebnis der 125 Untersuchungen an Bazillenträgern war folgendes: „Es wurden insgesamt 76 Stämme gefunden, und zwar 66mal Typhus- und 10mal Paratyphus-B-Bazillen. Von diesen wurden durch das Kohleverfahren 55 Typhus- und 9 Paratyphusstämmen, durch unmittelbare Endo-Platten und solche nach Malachitgrünabschwemmung zusammen 50 Typhus- und 8 Paratyphusstämmen gefunden. Nur durch das Kohleverfahren wurden 16 Typhus- und 2 Paratyphusstämmen ermittelt. Das Kohleverfahren versagte demgegenüber bei 11 Typhus- und 1 Paratyphusstämmen.“

Auffällig ist bei diesem Ergebnis, daß sich einmal Typhusstämmen nur durch das Kohleverfahren ermitteln ließen, das einfache Endo- und Malachitverfahren also versagte, auf der andern Seite jedoch das Kohleverfahren in 12 Fällen keinen Erfolg zeigte; ein Grund für das Versagen ist in der Arbeit nicht angegeben.

Die Adsorptionsversuche wurden von Kuhn später auf Bolus alba ausgedehnt. Mikroskopische Beobachtungen zeigten, daß Bolus alba über dieselbe adsorbierende Kraft verfügte, wie Tierkohle; ja, man fand, daß der Unterschied in der Wirkung auf Typhus- und Coli-Bazillen noch größer war. Diesen mikroskopisch gemachten Beobachtungen ließ Kuhn praktische Untersuchungen folgen, zunächst mit Bazillenträgerstühlen, später mit jedem in der bakteriologischen Anstalt eingesandten Typhus-Stuhl und -Urinmaterial. Die Technik der Untersuchung war die gleiche, wie die oben für Tierkohle geschilderte, jedoch insofern modifiziert, als auch die Malachitgrünplatte mit in die Bolusbehandlung einbezogen wurde. Die jedesmal zugesetzte Bolusmenge betrug 0,2 g.

Das Ergebnis mit Bolus alba bei der Untersuchung von mehreren tausend Stühlen und Urinen war folgendes: Die Zahl der erfolgreichen Untersuchungen bei bekannten Bazillenträgern wurde um 8 Proz., die bei der Umgebung sogar um 25 Proz., die Ge-

samtzahl aller erfolgreichen Untersuchungen um 19 Proz. gesteigert, wobei Kuhn allerdings die Abschwemmungsmethode von Malachitgrünagar nach der Bolusbehandlung mit in das Verfahren hineinbezieht.

Kurz nach der Veröffentlichung dieses Verfahrens machte Jännicke einige Versuche mit künstlich infizierten Typhusstühlen nach dem von Kuhn angegebenen Verfahren. Diese Prüfungen zeigten jedoch nicht die von Kuhn behauptete Ueberlegenheit des Kohlebolusverfahrens. Deshalb stellt Jännicke quantitative Versuche an, bei denen Mischungen von gleichaltrigen Typhuskulturen und bekannten Coli-Stämmen zu gleichen Teilen verwendet wurden. Durch Ausstrich wurde das Verhältnis von Typhus und Coli vor und nach dem Kohlezusatz festgestellt. Die so erzielten Ergebnisse entsprachen nicht den von Kuhn gemachten Angaben. Ferner prüfte Jännicke die fällende Kraft der Kohle an Typhus- und Coli-Stämmen. Dabei wurde festgestellt, daß Tierkohle nicht die Eigenschaften besitzt, das Zubodensinken der Typhus- und Paratyphusbazillen in elektiver Weise zu beeinflussen, sondern daß Coli-Bazillen mit und ohne Kohlezusatz in gleichem Verhältnis sich am Boden absetzen, wie Typhusbazillen, vielfach sogar schneller, da anscheinend die Eigenbewegung der Typhusbazillen dem Absinken in geringem Grade entgegenzuwirken scheint. Im Anschluß an diese Versuche mit Tierkohle stellte Jännicke solche mit Bolus alba nach der von Kuhn angegebenen Methode an. Er bestätigte die von Kuhn gemachte Beobachtung, daß Bolus alba eine noch größere Ausfällung der Bakterien bewirkte, als Tierkohle; die Ursache hierfür sieht Jännicke in der größeren Dichtigkeit und Schwere des Bolus; er konnte jedoch nicht feststellen, daß Bolus alba sich in besonderer Weise der Typhus- und Paratyphusbazillen bemächtigt. Dies ergab sich sowohl, wenn Typhus- und Coli-Aufschwemmung getrennt verwendet wurde, als auch bei Verwendung von Mischungen. Beide Bakterienarten sanken stets im gleichen Verhältnis ab.

Auch Jötten sah für die praktische Typhusdiagnose in dem Kuhnschen Verfahren keine besonderen Vorteile.

Zur Nachprüfung der Wirkung des Bolusverfahrens nach Kuhn wurden bei den einzelnen Versuchen je 5 Röhrchen mit gleichdichten Aufschwemmungen von Typhus- und Coli-Bazillen in folgenden Mengenverhältnissen und Abstufungen bewirkt:

#### Versuchsanordnung 1.

I.	1 ccm Co,	1 ccm Ty,	4 ccm NaCl				
II.	2 "	" "	1 "	" "	3 "	" "	
III.	3 "	" "	1 "	" "	2 "	" "	
IV.	4 "	" "	1 "	" "	1 "	" "	
V.	5 "	" "	1 "	" "	— "	" "	

Es enthalten also die Röhrchen I—V in Abstufungen 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, Coli- und Typhusbazillenaufschwemmung.

#### Versuchsanordnung 2.

a)	1 ccm Ty,	1 ccm Co,	4 ccm NaCl				
b)	2 "	" "	1 "	" "	3 "	" "	
c)	3 "	" "	1 "	" "	2 "	" "	
d)	4 "	" "	1 "	" "	1 "	" "	
e)	5 "	" "	1 "	" "	— "	" "	

Diese 5 Röhrchen enthalten also im Verhältnis 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, Typhus- und Coli-Bazillenaufschwemmung.

Zunächst wurden diese Versuche ohne Bolus alba gemacht; es wurde also anfangs die jeweils oben angeführte Mischung hergestellt, davon eine Normalöse auf eine Endo-Platte gebracht, mit dem Spatel ausgestrichen und mit dem gleichen Spatel dann 2 weitere Endo-Platten beschickt. Die 1. Endo-Platte wurde wegen des dichten Wachstums nur zum Ausstreichen benützt und unberücksichtigt gelassen. Die beiden anderen Platten wurden auf Typhus- und Coli-Keime getrennt ausgezählt. Dabei ergaben sich im Mittel folgende Zahlen:

#### Versuch 1a.

I.	20 Co,	16 Ty,	
II.	36 "	10 "	
III.	47 "	7 "	
IV.	141 "	14 "	
V.	378 "	5 "	



Der Versuch zeigt, daß nach dem steigenden Verhältnis der Coli-Aufschwemmung auch die Zahl der Coli-Keime auf den einzelnen Platten zunimmt, während die Zahl der Typhuskeime bei allen 5 Versuchen ziemlich gleich bleibt.

Als dann wurde derselbe Versuch mit derselben Versuchsreihe mit Zusatz von 0,2 g Bolus alba angestellt, ordentlich durchgeschüttelt, abgewartet bis sich der Bodensatz abgesetzt hat, die überstehende Flüssigkeit abgesogen und vom Bodensatz eine Normalöse auf 3 Platten wie beim vorigen Versuch verarbeitet. Die Mittelwerte ergaben:

Versuch 1b.

I.	68 Co,	8 Ty,
II.	25 "	8 "
III.	26 "	14 "
IV.	134 "	3 "
V.	557 "	— "

Auch dieser Versuch zeigte, entsprechend der Zunahme der Coli-Aufschwemmung, eine Steigerung im Wachstum der Coli-Keime, die bei Reihe IV und V besonders augenfällig erscheint; da die Zahl der Coli-Keime bedeutend höher ist, als im vorigen Versuch, so muß an dieser Erscheinung der Boluszusatz schuld sein, der die Coli-Bakterien adsorbiert, und zwar in solchem Maße, daß z. B. bei Versuch 5 die Typhuskeime, die allerdings auch nur im Verhältnis 1:5 zum Versuch verwendet wurden, überhaupt nicht mehr zum Wachstum kommen.

Man ersieht aus Reihe I, in der das Verhältnis von Typhus- und Coli-Bazillen gleich ist, und aus Reihe II, wo sich dieses Verhältnis für Coli:Typhus wie 2:1 verhält, keine stärkere Adsorption von Typhusbakterien durch Bolus alba, was der Fall sein müßte, wenn, wie Kuhn behauptet, Typhusbazillen durch Bolus alba mehr adsorbiert würden, als Coli-Bazillen. —

Zur Untersuchung des Verhaltens vom Wachstum der Typhus- und Coli-Kolonien bei umgekehrtem Mengenverhältnis wurde eine 2. Versuchsreihe angestellt, in der Typhus- und Coli-Bazillenaufschwemmung im Verhältnis 1:1, 2:1 usw. enthalten sind, und zwar ohne und mit Zusatz von Bolus alba.

Im Mittel sind die Werte folgende:

Versuch 2a.

I.	41 Ty,	32 Co
II.	124 "	65 "
III.	156 "	42 "
IV.	149 "	16 "
V.	271 "	52 "

Der Versuch zeigt, entsprechend dem vorigen, mit steigender Coli-Reihe, daß die Zahl der gewachsenen Typhuskeime steigt im Verhältnis der zunehmenden Menge, während Coli annähernd gleich bleibt, aber eine relativ größere Keimzahl erkennen läßt.

Der gleiche Versuch mit Zusatz von 0,02 g Bolus alba ergab folgendes:

Im Mittel sind auf den Platten gewachsen:

Versuch 2b.

I.	56 Ty,	203 Co
II.	106 "	191 "
III.	141 "	134 "
IV.	103 "	85 "
V.	319 "	93 "

Auch dieser Versuch zeigt, daß die Typhuskeime im Verhältnis der mehr verwendeten Menge steigen; hingegen ist deutlich zu ersehen, daß die Typhuskeime in keiner Weise mehr adsorbiert wurden, als die Coli-Bazillen. Im Gegenteil scheinen letztere durch Bolus alba mindestens in gleicher Weise, wenn nicht sogar noch mehr, adsorbiert zu werden. In Reihe II des Versuches 2b, in der das Verhältnis der verwendeten Typhusaufschwemmung zur Coli-Aufschwemmung 2:1 beträgt, überwiegen noch die Coli-Bazillen; erst bei Reihe III und IV, mit einem Verhältnis 3:1 bzw. 4:1 überwiegen die Typhuskeime, und auch hier nicht in ausgesprochenem Maße. Bei dem Mischungsverhältnis 5:1 tritt ein stärkeres Ueberwiegen der Typhuskeime auf. — Aus dem Versuch ist also ersichtlich, daß die Typhusbazillen keineswegs stärker adsorbiert werden, als die Coli-Bazillen.

So drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ob nicht noch andere Faktoren die Adsorptionsergebnisse beeinflussen.

Nissle machte bei der Herstellung von Plattenkulturen für Kurszwecke durch Mischen verschiedener Stuhlproben mit Typhusbazillen die Beobachtung, daß die Resultate oft sehr abweichend voneinander ausfallen, daß nämlich auf den Platten in einem Falle die Coli-Kolonien, im anderen Falle die Typhuskolonien weniger oder mehr oder ganz im Wachstum zurücktreten. Er stellte durch eingehende Untersuchungen fest, daß es einerseits Coli-Bazillen mit einem hohen „antagonistischen Index“ gibt, die durch ihr starkes Wachstum die Typhusbazillen überwuchern, daß es andererseits Coli-Bazillen mit niedrigem „antagonistischen Index“ gibt, bei denen die Ueberwucherungskraft gegenüber Typhusbazillen nur schwach oder gar nicht vorhanden ist.

Ist es nicht wahrscheinlich, daß in dem verschieden stark ausgeprägten Antagonismus der Coli-Bakterien gegen die Typhusbazillen der Grund für die verschiedenen Ergebnisse des Bolusverfahrens liegt?

Es ist erwiesen, daß Bolus alba auf Bazillen eine adsorbierende Kraft ausübt; läßt man diese Kraft auf ein Gemisch von Typhus- und schwach antagonistischen Coli-Bazillen einwirken, so muß das Wachstum der Typhusbazillen vermehrt erscheinen. Umgekehrt liegen die Verhältnisse, wenn in einem zur Adsorption gelangenden Gemisch von Typhus- und Coli-Bazillen ein starker, antagonistischer Coli-Stamm wirksam ist, der schon als solcher das Wachstum des Typhusstammes behindert.

Nissle hat an Stuhlproben von Gesunden und Kranken festgestellt, daß die Coli-Bazillen bei Gesunden in der Regel meist stark, bei Kranken meist schwach sind; die schwächsten Coli-Stämme fand Nissle bei Stühlen von Typhusdauer ausscheidern. Die Coli-Bazillen sind also bei Bazillenträgern nicht imstande, die Typhusbazillen zu verdrängen; eine Tatsache, die Nissle therapeutisch verwertete, indem er solche Leute mit starken Coli-Stämmen behandelte. Da nun Kuhn seine Versuche mit dem Kohle- und Bolusverfahren hauptsächlich an Stühlen von Bazillenträgern ausführte, deren Stühle stets zur Verfügung standen, so kann der Grund der guten Resultate des Verfahrens darin liegen, daß es sich um Stühle mit schwachen Coli-Stämmen gehandelt hat.

In unseren bisher ausgeführten Versuchen muß es sich um einen starken Coli-Stamm gehandelt haben — er stammt von einem Gesunden aus der Umgebung eines Typhuskranken!

Um diese Frage näher zu prüfen, wurden die oben ausgeführten Versuchsreihen nochmals angestellt, und zwar mit 2 verschiedenen Coli-Stämmen, die Prof. Nissle in freundlicher Weise uns zur Verfügung stellte. Die Versuche wurden getrennt mit einem schwach und einem stark antagonistischen Coli-Stamm angesetzt; den starken Coli-Stamm bezeichnen wir mit A, den schwachen mit D. Die folgenden Versuche sollten aufklären:

1) Ob bei den verschiedenen Mischungsverhältnissen der starke Coli-Stamm sich dem Typhusstamm gegenüber anders verhält, als der schwache Coli-Stamm,

2) ob durch Zusatz von Bolus alba eine Aenderung der Versuchsergebnisse eintritt.

Es sollte also untersucht werden, ob ein starker Coli-Stamm einen Typhusstamm am Wachstum schädigt, und ob die Wechselbeziehungen zwischen stark oder schwach antagonistischen Coli-Stämmen und Typhusbazillen durch Zusatz von Bolus alba beeinflusst wird.

Die Versuche selbst sind folgendermaßen ausgeführt: Von den Typhus- resp. Coli-Stämmen werden gleichmäßige Aufschwemmungen hergestellt, die in der unten näher ausgeführten Weise verdünnt sind. Zuerst werden die Versuche ohne, dann mit Boluszusatz angestellt. Von den Typhus-Coli-Bazillenmischung wurde eine Normalöse auf eine große Endo-Platte ausgestrichen und von dieser 3 weitere Platten beschickt. Die 1. Platte dient nur als Ausstrichplatte; gezählt werden die Kolonien auf den 3 folgenden Platten. Nach Ausführung dieses Versuches ohne Bolus wird derselben Mischung 0,02 g Bolus hinzugesetzt, kräftig durchgeschüttelt, kurze Zeit gewartet, bis sich der Bodensatz gebildet hat, die überstehende Flüssigkeit abgesogen und auch hier wieder vom Bodensatz eine Normalöse auf 4 Platten ausgestrichen, von denen die 3 letzten Platten zur Auszählung dienen.

Der 1. Versuch wird mit dem starken Coli-Stamm angesetzt.

Im Mittel ist das Verhältnis der Keime auf den 3 Platten folgendes:

#### Versuch 3a.

I.	116	Co,	98	Ty
II.	168	"	32	"
III.	252	"	33	"
IV.	296	"	30	"
V.	341	"	14	"

Der Versuch zeigt, daß bei gleichem Mengenverhältnis der starke Coli-Stamm stärker wächst; mit zunehmender Coli-Menge nimmt das Wachstum gegenüber den Typhuskeimen noch bedeutend zu.

Es folgt derselbe Versuch mit Zusatz von 0,02 g Bolus.

Im Mittel ist das Verhältnis folgendes:

#### Versuch 3b.

I.	76	Co,	22	Ty
II.	89	"	28	"
III.	101	"	13	"
IV.	116	"	10	"
V.	131	"	4	"

Auffällig bei diesem Versuch ist, daß im ganzen die Zahl der Typhus- und Coli-Keime geringer ist, als bei dem Versuch ohne Boluszusatz. Wo Coli- und Typhusaufschwemmung in relativ gleichem Verhältnis verwendet ist, ergibt sich, daß die Typhuskeime nicht mehr adsorbiert werden, als die Coli-Keime, sondern daß gerade umgekehrt die Coli-Keime mehr adsorbiert erscheinen (dabei ist wohl zu merken, daß es sich hier um den starken Coli-Stamm handelt).

Es folgt der entsprechende Versuch mit steigender Typhus-Bazillenmenge, zunächst ohne Bolus.

Im Mittel sind auf den Platten gewachsen:

Versuch 4a.

I.	220 Co,	158 Ty
II.	24 "	101 "
III.	29 "	104 "
IV.	40 "	204 "
V.	56 "	272 "

Dieser Versuch zeigt im Vergleich zu dem mit der steigenden Coli-Reihe folgendes: Wiederum ist bei gleichem Mengenverhältnis Coli stärker gewachsen als Typhus; der starke Coli-Stamm hindert also den Typhusstamm am Wachstum. Noch deutlicher zeigt sich diese Erscheinung bei dem Mischungsverhältnis 5:1 für Coli in Versuch 3a V. Reihe; dort sind im Mittel 341 Coli-Kolonien und 14 Typhuskolonien gewachsen, während bei dem letzten Versuch, Mischungsverhältnis 5:1, für Typhus im Mittel 56 Coli-Keime und 272 Typhuskeime gewachsen sind. Es zeigt sich also, daß der starke Coli-Stamm trotz der 5-fachen Typhusmenge relativ stärker wächst, als dies umgekehrt beim Typhusstamm bei der 5-fachen Coli-Menge der Fall ist. Hier kommen auf 341 Coli-Keime nur 14 Typhuskeime. Das Ergebnis ist dadurch zu erklären, daß dem Typhusstamm sowohl die größere Coli-Menge als auch der stärkere Coli-Stamm, der schon an und für sich das Wachstum der Typhuskeime behindert, gegenübersteht, während der Coli-Stamm das Mißverhältnis der größeren Typhusmenge zum Teil durch die Stärke seines Stammes ausgleicht und dadurch der Unterschied nur 272:56 beträgt.

Es folgt derselbe Versuch mit Zusatz von 0,02 g Bolus alba.

Im Mittel sind auf den Platten gewachsen:

Versuch 4b.

I.	70 Co,	37 Ty
II.	26 "	33 "
III.	77 "	99 "
IV.	100 "	141 "
V.	73 "	159 "

Vergleicht man diesen Versuch mit dem entsprechenden der steigenden Coli-Reihe mit Boluszusatz, Versuch 3b, so fällt sofort ins Auge, daß bei Versuch 3b Typhus sehr im Wachstum zurückblieb, dagegen ist bei Versuch 4b mit steigender Typhusmenge das Wachstum der Coli-Bazillen bedeutend stärker und unregelmäßiger als bei der entsprechenden Versuchsreihe von 4a ohne Boluszusatz; wohl mit ein Beweis dafür, daß auch Coli durch Bolus alba kräftig adsorbiert wird und hierdurch eine erhöhte Wirksamkeit des stark antagonistischen Coli-Stammes gegenüber den Typhusbazillen zur Geltung kommt.

Diesen Versuchen mit einem starken Coli-Stamm wurden Versuche in gleicher Ordnung mit dem schwachen von Prof. Nissle zur Verfügung gestellten Coli-Stamm gegenübergestellt. Die praktische Anordnung der Versuche ist die gleiche, wie bei den vorigen Versuchen.

Versuch mit steigender Coli-Reihe vom schwachen Coli-Stamm D ohne Zusatz von Bolus:

Das ergibt im Mittel auf die Platten:

Versuch 5a.

I.	44 Co,	263 Ty
II.	16 "	219 "
III.	13 "	219 "
IV.	10 "	240 "
V.	8 "	244 "

Dieser Versuch zeigt, daß der schwache Coli-Stamm schon bei gleichem Mengenverhältnis stark hinter dem Typhusstamm zurückbleibt, und daß er trotz der steigenden Menge nicht imstande ist, dem Typhusstamm gegenüber ein stärkeres Wachstum zu entwickeln.

Das Verhalten des schwachen Coli-Stammes ist in dem folgenden Versuche mit Boluszusatz ganz das gleiche, sein Wachstum gegenüber dem Typhusstamm ist auch hier trotz der steigenden Menge sehr schwach; mit zunehmender Menge ist nur eine leichte Zunahme im Wachstum der Coli-Keime nachzuweisen.

Versuch mit steigender Coli-Menge des schwachen Coli-Stammes D mit Zusatz von Bolus alba 0,02 g.

Im Mittel sind auf den Platten also gewachsen:

Versuch 5b.		
I.	8 Co,	168 Ty
II.	3 „	233 „
III.	17 „	423 „
IV.	27 „	189 „
V.	63 „	203 „

Es folgen noch 2 Versuchsreihen mit demselben schwachen Coli-Stamm, aber mit zunehmender Typhusmenge, ohne und mit Zusatz von Bolus alba:

Versuch 6a (ohne Boluszusatz).

Im Mittel sind auf den Platten gewachsen:

I.	78 Co,	229 Ty
II.	28 „	329 „
III.	15 „	219 „
IV.	22 „	325 „
V.	14 „	177 „

Versuch 6b (mit Zusatz von 0,02 g Bolus).

Im Mittel sind es folgende Zahlen:

I.	11 Co,	55 Ty
II.	1 „	66 „
III.	1 „	294 „
IV.	— „	309 „
V.	— „	332 „

Aus den beiden letzten Versuchsreihen ist zu ersehen, daß beim Zusatz von Bolus alba der schwache Coli-Stamm fast ganz, in Reihe IV und V vollständig zurückgedrängt ist. Es ist wahrscheinlich, daß dieses Ergebnis auf das durch die Adsorption bedingte intimere wechselseitige Einwirken der schwachen Coli-Stämme und der relativ starken Typhusstämmen aufeinander zurückzuführen ist.

Sämtliche Versuche mit starkem und schwachem Coli-Stamm wurden zur Prüfung der Ergebnisse noch einmal wiederholt. Sämtliche Versuche ergaben prinzipiell gleiche Resultate, so daß es sich erübrigt, die genauen Zahlen des 2. Versuches hier nochmals anzuführen.

Kurz zusammengefaßt ergeben die Versuche folgendes:

1) Eine größere Adsorption der Typhusbazillen im Vergleich zu Coli-Bazillen durch Bolus alba findet nicht statt.

2) Die Ursache der früheren Ergebnisse ist wahrscheinlich in dem verschieden starken wechselseitigen Antagonismus zwischen Coli- und Typhusbazillen zu suchen.

3) Es liegt die Möglichkeit vor, daß diese antagonistischen Erscheinungen durch die Adsorption verstärkt werden, da sie eine intimere Berührung zwischen Coli- und Typhusbazillen bedingen.

4) Die Ergebnisse von Kuhn erklären sich zwanglos aus der umfangreichen Verwendung von Stühlen von Typhusbazillenträgern, die meist über schwach antagonistische Coli-Stämme verfügen.

5) Einen praktischen Wert kann man daher vom Bolus alba-Verfahren nicht erwarten.

#### Literatur.

- 1) Kuhn, Die Verwendung der Tierkohle zum Nachweis von Typhusbazillen. (Med. Klin. 1915. Nr. 48.) — 2) Kuhn, Adsorptionsverfahren zum Nachweis von Typhusbazillen. (Ebenda. 1916. Nr. 6.) — 3) Kuhn, Weitere Mitteilungen über den Nachweis von Typhus, Ruhr und Cholera durch das Bolusverfahren. (Ebenda. 1916. Nr. 36.) — 4) Jännicke, Das Absinken der Typhus-, Paratyphus- und Coli-Bazillen und das Kuhnsche Verfahren des Typhusnachweises im Stuhl. (Deutsche med. Wochenschr. 1917. Nr. 26.) — 5) Jötten, Ueber den Typhusbazillennachweis mittelst des Bierast-schen Petrolätherversfahrens und der Bolusmethode nach Kuhn, sowie über die Verwendbarkeit dieser Verfahren für die bakteriologische Ruhrdiagnose. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 51. 1918.) — 6) Nissle, Ueber die Grundlagen einer neuen, ursächlichen Bekämpfung der pathologischen Darmflora. (Deutsche med. Wochenschr. 1916. Nr. 39.) — 7) Mayer, O., Vergleichende Untersuchungen über Malachitgrünagar-, Petroläther-, Bolus- und Gallenanreicherungsverfahren zur Züchtung von Typhusbazillen aus Stuhlentleerungen. (München. med. Wochenschr. 1917. S. 1151.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur biologischen Wirkung des Chlorophylls auf Mikroorganismen.

### I. Chlorophyll als Nährbodenbestandteil.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg  
(Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von **Heinz Zeiss.**

Die biologische Wirkung von Pyrrolabkömmlingen — in erster Linie die photodynamische — haben Hausmann (1, 2, 3) und seine Mitarbeiter darzulegen gesucht. Sie haben sich mit dem Chlorophyll beschäftigt und bei diesem Farbstoff festgestellt, daß ihm zweifellos wohl photodynamische Eigenschaften zuzuschreiben seien. Seine nahe Verwandtschaft mit dem Blutfarbstoff hat ja in den letzten Jahren Bürgi veranlaßt, das Chlorophyll in den Arzneischatz einzuführen; neuerdings ist er mit seinen Mitarbeitern bestrebt, die pharmakologischen Seiten weiter zu studieren (4, 5). Der sichere Grundstein, auf dem ein Aufbau überhaupt erst möglich war, bleibt aber das Werk Willstätters (6) und seiner Schüler.

Bereits nach meinen letzten Versuchen mit Eosin (7) hatte ich mich 1914 dem Chlorophyll zugewendet. Ich ging damals in anderer Richtung vor, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann; der Krieg hatte sie unterbrochen und ich nahm sie anfangs 1919 wieder auf. — Heute soll nur über die Wirkung des Chlorophylls als Nährbodenbestandteil gesprochen werden, eine Untersuchung, welche einen Ausschnitt größerer

Reihen darstellt und durch die Arbeit von Seiffert und Bamberger (8) veranlaßt wurde.

Beim Studium über den Chemismus elektiver Choleranährböden waren Seiffert und Bamberger zu folgenden Schlüssen gelangt (l. c. S. 297):

„Das Wachstum der Cholera auf den Blutalkalinährböden wird durch Hämoglobin und andere Pyrrolabkömmlinge, wie Gallenfarbstoffe und Chlorophyll, begünstigt. Praktisch brauchbar ist ein Chlorophyllnährboden, der den Vorteil des Dieudonnéschen Blutalkaliagars, große Elektivität, mit der für Cholera charakteristischen Farbreaktion des Aronsonschen Fuchsinährbodens vereinigt und nach Herstellung sofort brauchbar ist.“ Außer dem Chlorophyll hatten sie noch andere Pyrrolabkömmlinge, wie Bilirubin, Hämoglobin, Hämin, Hämatoporphyrin und Pyrrol selbst herangezogen. Bei der Auswahl verschiedener Chlorophyllpräparate fanden sie das Chlorophyll „Merck“ *Solutio spirituosaa* als das brauchbarste (S. 298). In seiner Wirkung soll das *Extract. urticae* Merck (S. 283) noch besser sein (siehe Tabelle VIII bei Seiffert und Bamberger).

Die Vorschrift für den Chlorophyllnährboden geben Seiffert und Bamberger folgendermaßen an:

„Zu 60 ccm einer 10-proz. Sodalösung, mit wasserfreier Soda hergestellt, gibt man 25 ccm Chlorophylllösung (*Solutio spirituosaa* „Merck“) und erhitzt dieses Gemisch 1 Std. lang im Dampftopf. (Es kann die Konzentration der Sodalösung auch noch etwas erhöht werden; die Elektivität wird dadurch noch erheblich gesteigert, der Nährboden arbeitet aber nicht mehr so vollkommen sicher.) Dann werden 50 ccm einer sterilen Rohrzuckerlösung und 50 ccm einer sterilen Dextrinlösung (je 20 Proz.) zugefügt. Das Ganze wird mit einem Liter Neutralagar vermischt. Dem Agar werden vor Benutzung 4 ccm alkoholische Diamantfuchsinlösung und ca. 15 ccm einer 10-proz. Natriumsulfatlösung bis zum Eintritt der Entfärbung zugesetzt. Die Diamantfuchsinlösung wird nach Aronson hergestellt, indem man absoluten Alkohol während 24 Std. im Brutschrank mit überschüssigem Diamantfuchsin unter öfterem Umschütteln zur Lösung stehen läßt. Die gegossenen Platten können bis zum Trocknen offen stehen bleiben, da ein Wachstum etwaiger Luftkeime auf ihnen nicht zu befürchten ist. Es ist vorteilhaft, den Chlorophyllagar frisch zu bereiten und sofort in Platten auszugießen, da er bei wiederholtem Erhitzen an Elektivität einbüßt. Der Nährboden ist sofort brauchbar.“ (l. c. S. 288). —

Mir schien nach allem, was Willstätter über die Empfindlichkeit eines solch zartgebauten Körpers, wie des Chlorophylls, zu sagen weiß, das Erhitzen mit Alkalien (Soda) 1 Std. lang im Dampftopf eine immerhin einschneidende Maßnahme (l. c. 6, S. 26, 30, 334), die unbedingt zu Veränderungen (Abbau, Umgruppierung usw.) führen muß.

Sehen wir ferner, daß außer Hitze und Alkali auch noch Fuchsin und verschiedene Zucker ihre Wirkung entfalten konnten, so fragt man sich, wo eigentlich das Chlorophyll oder seine Spaltprodukte usw. ihre Wirkung entfalten. Meine Absicht war nun, zu prüfen:

- 1) „Chlorophyll“-Präparate verschiedener Herkunft auf die gleiche Weise, wie es Seiffert und Bamberger getan hatten;
- 2) ob und wie Choleravibrionen und andere pathogene Darmbakterien auf Chlorophyllnährboden gedeihen;
- 3) die Einwirkung der einzelnen Bestandteile des Seiffert-Bambergerschen Nährbodens, unabhängig vom Chlorophyllpräparat;
- 4) die photodynamische Wirkung von Chlorophyllpräparaten.

Folgende Chlorophyllpräparate standen mir zur Verfügung:

I. Chlorophyll, wasserlöslich und carotinfrei	} von Schuchhardt (Görlitz).
II. „ „ ätherlöslich und alkohollöslich	
III. „ „ liquid. spiritus- und wasserlöslich	
IV. Chloro-Stahl in Pastillen	Dr. Stahl (Freiburg i. B.).
V. Chlorosan in Pastillen nach Bürgi	Dr. Blell (Magdeburg).
VI. Chlorophyll aus Brennesseln „alt“	} Görbing (Hbg.-Großborstel).
VII. „ „ „ „ „frisch“	

Der Ausgangsstoff bei der Herstellung war bei III nicht mehr festzustellen; bei I und II waren es nach Mitteilung der Fabrik Brennesseln. IV setzt sich nach Angabe des Herstellers aus Chlorophyll (Ursprungspflanze?) in Verbindung mit Lezithin, glyzerin-phosphorsaurem Kalium und Nährsalzen zusammen. V wird nach der Beischrift der Chlorosan-A.-G. „aus sorgfältig auserlesenen, gleichmäßigem Pflanzenmaterial hergestellt. Chlorosan ist im wesentlichen ein Chlorophyllpräparat“, es enthält „neben dem nach besonderem Verfahren hergestellten Chlorophyll etwas gebundenes Eisen“. VI und VII waren aus selbstgesammelten Brennesseln hergestellt. — Ueber die Beschaffenheit der einzelnen Präparate ist folgendes zu sagen:

I und II sind schmierige, dunkelgrün bis schwarzgrün gefärbte pastenähnliche Substanzen, die sich in den für sie angegebenen Flüssigkeiten gut lösen. III hatte ich bereits gelöst von der Fabrik bezogen. IV und V sind harte Pillen, die im Mörser gut zerrieben, mit 96 Proz. Alkohol ausgezogen wurden; für jede Lösung nahm ich 30 Stück. VI aus Brennesselblättern, die im Juli 1919 gesammelt und getrocknet, bis zu ihrer Bearbeitung im Januar 1920 an der Luft gelegen hatten. Der Alkoholauszug wurde 2 Monate später (März) zum Versuch genommen. VII ebenfalls aus Brennesseln desselben Standorts (Mai 1920) getrocknet und sofort mit 96-proz. Alkohol ausgezogen, 24 Std. später verarbeitet.

Spektroskopisch waren, mit Ausnahme von I und III, die für Chlorophyll charakteristischen Bänder nachzuweisen. I und III wurden deshalb ausgeschaltet.

Ich prüfte insgesamt 36 Stämme, die sich auf die einzelnen Gruppen folgendermaßen verteilten:

Nr. 1—7, Ha, Hb, L <sub>90</sub>	— 10 Stämme <i>Bact. dysenteriae</i> . (8 vom Typus Shiga-Kruse: 2, 3, 4, 6, 7, Ha <sup>2)</sup> , Hb <sup>2)</sup> , L <sub>90</sub> <sup>1)</sup> ; 2 vom Typus Flexner: 1 und 5).
Nr. 12—23, 33 <sup>1)</sup>	— 13 Stämme <i>Bact. typhi</i> .
Nr. 26 und 44	— 2 „ <i>Bact. parat. A.</i>
Nr. 27, 28 und 55 <sup>1)</sup>	— 3 „ <i>Bact. parat. B.</i>
Nr. 77 und 66 <sup>1)</sup>	— 2 „ <i>Vibrio cholerae</i> .
Nr. 88 <sup>1)</sup>	— 1 Stamm <i>Vibrio</i> aus Elbwasser.
Nr. 8	— 1 „ <i>Bact. vulgare</i> Typus <i>Proteus</i> X 19.
Nr. 25 und 99 <sup>3)</sup>	— 2 Stämme <i>Bact. enteritidis</i> .
Nr. 100	— 1 Stamm <i>Bact. pyocyaneum</i> .
Nr. 200 <sup>4)</sup>	— 1 „ <i>Bact. prodigiosum</i> „Waldbröl“.

Ehe ich den Seiffert und Bambergerschen Nährboden, dessen Vorzug ja in der Begünstigung des Cholerawachstums liegen soll, in toto prüfte, suchte ich erst festzustellen, wie „Chlorophyll“ allein dem Nährboden zugesetzt, auf die Cholerabakterien wirke. Es zeigte sich, daß bis zu 5 Proz. Chlorophyllgehalt von II auf Schrägagar Wachstum, wenn auch mäßig, stattfand, darüber hinaus jedoch der Nährboden steril blieb, wie durch Peptonanreicherung nachgewiesen werden konnte. Ueber 5 Proz. bildete sich bei tagelangem Bebrüten des geimpften Chlorophyll-agarröhrchens mit Pepton nicht die Spur eines Häutchens, während bis 5 Proz., auch wenn das Wachstum gerade eben noch sichtbar war, eine positive Peptonkultur erreicht werden konnte.

1) Aus der Sammlung des hiesigen Hygienischen Instituts.

2) Von Herrn Prof. Rodenwaldt (Hyg. Institut, Heidelberg) in vivo et post mortem bei einer Kinderruhr in Heidelberg 1919 gezüchtet.

3) Von Herrn Prof. Bitter (Hyg. Institut, Kiel) isoliert; vgl. Bitter: *Massen-erkrankung an Gastroenteritis* nach dem Genuß von geräucherten Makrelen, bedingt durch das *Bact. ent.* Breslau. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920. S. 387.)

4) Aus der Sammlung von Herrn Geheimrat Neumann (Hyg. Institut, Bonn.) —

Für die Ueberlassung der Stämme sei den genannten Herren nochmals bestens gedankt.



Da beim Mischen des flüssigen Agars die alkoholische Chlorophylllösung keine gleiche Verteilung in dem Agar eingeht, ist darauf zu achten, daß die Lösung dem Agar bei einer Temperatur von 50° zugesetzt wird, damit kein Alkohol verdunstet und keine stärkere „Chlorophyll“-Konzentration als gewünscht, zustande kommt. Durch einmaliges Schütteln läßt sich noch am ehesten eine gute Mischung erreichen. — Weiterhin mußte konstatiert werden, ob 96-proz. und absol. Alkohol allein als Agarzusatz irgendwelche Wachstumshemmung auslöste. Der Parallelversuch zwischen der alkoholischen Chlorophylllösung und Alkohol allein ergab für letzteren ein besseres Ergebnis als für erstere: das Wachstum war auf Alkoholagar gut, während es auf Chlorophyllagar mäßig war. Es sei der Vollständigkeit halber hinzugefügt, daß bei der Prüfung sowohl der gewöhnliche Agar als auch nach dem Vorgange von Süpfle und Dengler (9) der optimale Nährboden benützt wurde („alkalischer Choleraagar“). Das fragliche „Chlorophyll“ hat zweifellos hemmend auf das gewöhnlich reichliche Wachstum der Vibrionen gewirkt. Dieser Einfluß wird jedoch vollkommen ausgeschaltet, wenn man die von Seiffert und Bamberger gegebenen Zusätze verwendet. Bei diesen gedeihen die Cholerabakterien ausgezeichnet und bilden die tiefdunkelroten und schillernden Kolonien, wie es Seiffert und Bamberger ebenfalls beschrieben haben.

Die einzelnen Chlorophyllpräparate unterscheiden sich in dieser Beziehung nicht wesentlich voneinander, das Wachstum ist bei allen gleich üppig.

Den Grundgedanken, welcher Seiffert und Bamberger bei ihren Untersuchungen leitete — hoher Alkaligehalt zur Ausschaltung der Darmbakterien und Ersatz des Blutes bei dem Dieudonné'schen Agar durch einen dem Hämoglobin nahestehenden Pyrrolabkömmling, das Chlorophyll, zur elektiven Züchtung der Cholerabakterien — haben sie bei ihren Untersuchungen bestätigt gefunden. Denn nahmen sie (l. c. S. 289) Bakterien der Coli-, Typhus-, Y-Ruhr und Paratyphusgruppe strichen sie, in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, auf die verschiedenen Platten Dieudonné usw. (siehe Tabelle XIII von Seiffert und Bamberger) aus, so blieb allein der Chlorophyllnährboden vollkommen steril, „während auf allen anderen Platten die 4 Bakterienarten mit mehr oder minder starker Hemmung wuchsen; auf keinen der Nährböden kamen aber die Bakterien zu ungehemmtem Wachstum.“

Es schien mir nach meinen Friedens- und Kriegserfahrungen mit Dieudonné-Nährböden verschiedener Herkunft immerhin wissenswert zu prüfen, ob auf dem Seiffert-Bambergerschen Boden ich ähnliche widersprechende Ergebnisse haben würde, wie bei Dieudonné, auf dem oft ein bunter Flor aller möglichen Stuhl bakterien sich breit machen kann. Folgendes kam zum Vorschein (Tab. S. 295).

Die Dysenteriegruppe ist außerordentlich empfindlich und in ihr wieder besonders der Typus Shiga-Kruse (2, 3, 4, 6, 7, Ha, Hb, L 40), weniger Flexner (1 u. 5). Die Typhusgruppe ist bedeutend widerstandsfähiger; hierunter sind Stämme, die sehr gut wachsen: 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 33. Die Paratyphus- und Enteritisgruppe wiesen ein schrankenloses Wachstum auf. Sie zogen ebenfalls Farbe aus dem Nährboden wie die Vibrionen an sich und schillerten ähnlich wie diese. Am stärksten taten es von den übrigen Bakterienvertretern *Bact. vulgare* (Typ *Proteus* X 19) und die Farbstoffbildner (*Bact. pyocyaneum* und *prodigiosum*).

	Bezeichnung des Stammes	Soda- Nähr- boden	Chloro- phyll + Soda	Chlorophyllnährboden mit Präparat Nr.				
				II	IV	V	VI	VII
Dysenteriegruppe	1	0	0	(+)	(+)	0	0	0
	2	0	0	(+)	(+)	0	0	0
	3	+	+	++	(+)	0	0	0
	4	0	0	0	(+)	0	0	0
	5	0	0	(+)	(+)	0	(+)	0
	6	0	0	0	(+)	(+)	(+)	0
	7	0	0	+	(+)	(+)	(+)	(+)
	Ha	0	0	0	(+)	0	0	0
	Hb	0	0	0	(+)	0	0	0
	L 40	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	++	+	++	(+)	0
	13	++	0	++	++	(+)	0	0
	14	+	0	(+)	++	(+)	0	0
	15	0	0	+	++	0	0	0
	16	0	0	++	++	0	(+)	0
	17	++	0	++	++	++	0	0
	18	++	++	++	++	0	0	0
	19	++	+	+++	++	0	0	0
	20	++	+	+++	++	0	0	0
	21	0	++	++	+	0	0	0
	22	0	0	0	+++	0	0	0
Typhusgruppe	23	++	+	+++	++	+++	0	+++
	33	0	0	(+)	++	++	++	0
	26	0	0	+++	++	+++	+++	+++
	44	0	0	++	++	(+)	+++	+++
	27	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	28	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	55	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	25	++	++	++	++	++	++	++
	99	++	++	++	++	++	++	++
	VII	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Vi- brionen- gruppe	66	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	88	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	Proteus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Pyocyaneus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Enteritis- gruppe	Prodigious	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Para- typhusgruppe								
Para- typhusgruppe								

Welche Präparate sind nun besonders wirksam? Zweifellos die aus möglichst frischem oder ganz frischem Material hergestellten (VI und VII). Denn sie verhindern bereits das Wachstum bei empfindlichen Vertretern der Ruhrgruppe, wenn es bei II und IV noch stattfinden kann. Das Gleiche gilt für einige Typhusstämme. Auffallend war, daß derselbe Stamm, der bei II noch gedieh, bei V ein Wachstum nicht mehr oder nur sehr schwach entfaltete (Nr. 3, 13, 15, 18, 19, 20, 21). Ich glaube, den Grund hierzu in der „stärkeren“ Chlorophylllösung zu finden, d. h. einer Auflösung größerer Mengen der schmierigen „Chlorophyll“präparate in 96-proz. Alkohol. IV nimmt eine Sonderstellung ein. Es gab für alle (mit Ausnahme von L 40, der auf nichts wachsen wollte) Bakterien einen sehr günstigen Nährboden ab. Die Möglichkeit liegt vor, daß dies mit dem Gehalt an anderen „nährhaften“ Stoffen seiner Zusammensetzung in Verbindung steht.

Ähnliche Ergebnisse zeitigte die Verarbeitung von Stuhlproben. Seiffert und Bamberger fanden den Chlorophyllnährboden in 32 Proz. steril, eine Wachstumshemmung in 100 Proz. und eine sehr starke Hemmung bei 40 Proz. Unsere Versuche ähneln im großen und ganzen dem Bilde, das die Tabelle wiedergibt, d. h. die Wirkung der Chlorophyllnährböden ist nicht im geringsten einheitlich.

Es war dann weiterhin festzustellen, ob die Bakterien des Typhus, Paratyphus und der Dysenterie in chlorophyllhaltigen Nährböden ohne die von Seiffert und Bamberger gegebenen Zusätze gedeihen könnten oder nicht. Es ergab sich in 10-proz. Chlorophyllbouillon ein üppiges Wachstum, welches hingegen auf 10-proz. Agar sich kaum entwickeln und praktisch nicht als solches angesprochen werden konnte. Die Bakterien ließen sich auch alle 3–4 Tage auf frische Chlorophyllbouillon (von 2,5-proz. bis 10-proz.) einimpfen, ohne in ihren biologischen Eigenschaften irgendwie Schaden zu erleiden. Allerdings wurden die Vertreter der Ruhrgruppe (Shiga) durch VI und VII im ungehinderten Wachstum gehemmt, II und V schadeten ihnen jedoch nichts. In 10-proz. alkoholischen (96-proz.) Bouillon gediehen die Ruhr-, Typhus- und Paratyphus-A-Bakterien gar nicht, hingegen die Paratyphus-B- und Enteritisgruppe ausgezeichnet.

Es war daher nötig zu prüfen, ob der von Seiffert und Bamberger benutzte Chlorophyllgehalt von 2,5 Proz. + 10 Proz Sodazusatz und letzterer allein irgendwie das Wachstum beeinflusse. Das Resultat zeigt die Tabelle.

Die Dysenteriegruppe ist wieder am empfindlichsten, die Typhusgruppe hat widerstandsfähigere Vertreter, unter der Paratyphusgruppe ist A überhaupt auf beiden Nährböden, im Gegensatz zu B nicht gediehen, während die Vertreter der Enteritisgruppe, der Vibrionen und Proteus, Pyocyaneus und Prodigiosus ungehemmten Ausdehnungsdrang bewiesen.

Diamantfuchsin<sup>1)</sup> und Natriumsulfit, beide in der von Seiffert und Bamberger verlangten Konzentration dem Agar allein zugesetzt, bewirkten bei dem Farbstoff eine Wachstumshemmung und Abtötung nur auf den Typus Shiga. Natriumsulfit hatte nicht den geringsten Einfluß auf alle Stämme.

Daß eine photodynamische Wirkung der alkoholischen Chlorophylllösung, wie sie Hausmann früher (allerdings nicht an Bakterien) beobachtet hatte, bei unsern Versuchen nicht im Spiele sei, konnte gezeigt werden, indem ich alle Stämme auf 2,5 Proz. Chlorophyllagar im hellen diffusen Tageslicht (nach NW.) und im Dunkeln züchtete (mit II und VI). Irgendein Unterschied im Wachstum zwischen beiden Reihen ließ sich nicht aufzeigen.

Von einer einheitlichen Wirkung der Chlorophyllpräparate kann nicht die Rede sein. Die von mir angewendeten Präparate enthalten wohl Chlorophyll, aber dieses nicht in der von Willstätter dargestellten chemisch-reinen Form. Seiffert und Bamberger war es bekannt, daß reines Chlorophyll schwer zu erhalten und darzustellen sei, und deshalb griffen sie zum Chlorophyllauszug aus Brennesseln. Für eine Chlorophyllwirkung im elektiven Sinne zum Gebrauch für Cholera-nährböden kann man nach unseren Erfahrungen mit den noch am „reinsten“ Präparaten II, V, VI und VII nicht sprechen. Dafür ist der Gehalt an anderen, teilweise unbekannten organischen Substanzen, die aus den Blättern mitausgezogen werden und neben dem Chlorophyll vorhanden sind, sicher viel zu groß und seiner Zusammensetzung nach unbekannt. Ganz die gleichen Verhältnisse hat Gans (10) bei den alkohol- und ätherlöslichen Auszügen und deren Wirkungen auf Bakterien bei Stachelbeeren, Knoblauch und Zwiebeln angetroffen.

1) Von W. G. Grübler & Co., Leipzig.

Die Einwirkung von Pyrrolabkömmlingen, dem Hämatin, Hämatoporphyrin, Bilirubin und Mesohämatin auf Bakterien hatte auch Kämmerer (11) bereits früher zum Gegenstand seiner Studien gemacht und festgestellt, daß gerade Mesohämatin stark schädigend und abtötend auf bestimmte Mikroorganismengruppen wirkt, hingegen die drei erstgenannten Farbstoffe als wachstumsfördernd, zum mindesten aber nicht schädigend sich erwiesen. Es zeigte sich, daß die grampositiven Bakterien gegen die genannten organischen Farbstoffe recht empfindlich sind, die gramnegativen aber nicht, Feststellungen, die bereits früher unabhängig voneinander Churchman (12, 13), Eisenberg (14), Zeiss (15) und neuerdings wieder Bail (16), Gassner (17) und Stöltzner (18, 19) (welcher auf diese Tatsache ein chemo-therapeutisches Präparat, Tebelon, hergestellt hat) gemacht haben. Ich weise nur kurz darauf hin<sup>1), 2)</sup>.

Nun fanden Seiffert und Bamberger, daß Nährböden von 0,02 Proz. Hämatoporphyrin- und Bilirubinzusatz stark hemmend auf Darmbakterien (Stuhlausstrich) wirkten. Kämmerer sah hingegen Wachstum der gramnegativen Vertreter bei 1:2000 (= 0,05 Proz.). Eine Klärung des vorliegenden Widerspruches ist nicht möglich, es mag die Wahrscheinlichkeit vorliegen, daß die Zusammensetzung der einzelnen Präparate je nach der chemischen Gewinnung geschwankt hat. Das Gleiche wird für die „Chlorophyllwirkung“ anzunehmen sein. Der von Seiffert und Bamberger mit Solutio spiritiosa „Merck“, einer Chlorophylllösung, übt auf die gramnegativen pathogenen Darmbakterien einen absolut hemmenden Einfluß aus; ich konnte aber zeigen, daß eine größere Zahl dieser Vertreter 10-proz. alkoholische Chlorophyllbouillon wochenlang verträgt und daß bestimmte Gruppen überhaupt unempfindlich gegenüber dem Chlorophyll sind. Jedenfalls sind zwischen den Angaben von Seiffert und Bamberger einerseits, denen von Kämmerer und den meinigen andererseits noch eine Reihe von Widersprüchen und Fragen zu lösen.

Zusammenfassend läßt sich also sagen:

1) Die Beobachtung von Seiffert und Bamberger über gutes und reichliches Wachstum der Choleravibrionen auf dem von ihnen angegebenen Chlorophyllnährboden kann bestätigt werden.

2) Der Ansicht von Seiffert und Bamberger, diesen Nährboden als einen elektiven Choleranährboden zu betrachten, können wir auf Grund unserer Versuche uns nicht anschließen. Denn der Nährboden läßt außer dem Gedeihen der Cholerabakterien auch das der pathogenen Darmbakterien der Typhus-, Paratyphus- und Enteritis-Gruppe zu; ferner von anderen das *Bact. vulgare* (*Proteus*), *Bact. pyocyaneum* und *prodigiosum*.

1) 2 Milzbrandstämme Olt. II und III, sowie Staphylokokken, Streptokokken waren auf Chlorophyllagar nicht zum Wachstum zu bringen. Die Luftkokken verhielten sich schwankend. Untersuchungen sind im Gange. — 3 Stämme von *Bact. melitense* waren ebenfalls sehr empfindlich.

2) Anmerkung bei der Korrektur: Auf ähnliche Verhältnisse machen Green und Westell aufmerksam (*Behaviour of bacteria towards Arsenic*. 7 to 8; *Reports of the Director of Veterinary Research*. Cape Town 1920. 1918. p. 701). Empfindlich gegenüber  $As_2O_3$  die grampositiven Sporenbildner, die Streptokokken und Mikrokokken. Die Angehörigen der Typhusgruppe verhalten sich verschieden, sind aber widerstandsfähiger als die Sporenbildner. Vertreter der *Pyocyaneus*- und *Fluorescens*-Gruppe sind als unempfindlich zu bezeichnen.

3) Die gramnegativen Bakterien sind den Chlorophyllpräparaten gegenüber erheblich widerstandsfähiger als die grampositiven, die meisten sogar unempfindlich.

4) Die Empfindlichkeit des Nährbodens ist stark abhängig von den jeweils angewandten Chlorophyllpräparaten. Wohl ist in diesen Chlorophyll enthalten, jedoch in einer durch die Bereitungsweise des Ausgangsmaterials und des Nährbodens beträchtlich veränderten und chemisch nicht reinen Form. Von einer Chlorophyllwirkung im strengen Sinne des Wortes kann daher nicht gesprochen werden.

5) Die von mir untersuchten Chlorophyllpräparate, von denen 2 aus frischem alkoholischen Brennesselblätterrauszug bestanden, 1 aus den Bürgischen Chlorosapillen, 1 aus einem 5 Jahre alten Präparat gewonnen war, wiesen in ihrer Wirkung mannigfache Unterschiede auf. Die frischen Auszüge sind am wirksamsten, dann folgen Chlorosan und das „alte“ Präparat. In den Stahlschen Pillen sind eine Menge anderer Stoffe, die nicht aus Blättern stammen, enthalten, so daß die Wirkung des vorhandenen Chlorophylls nicht zur Geltung kommen kann.

6) Eine photodynamische Wirkung des Chlorophylls als Nährbodenbestandteil konnte nicht beobachtet werden.

7) Um einwandfrei die biologischen Wirkungen des Chlorophylls auf Mikroorganismen zu prüfen, sind Versuche mit reinem Chlorophyll (nach der Willstätterschen Darstellung) erforderlich.

#### Literatur.

Zusammenfassende Darstellungen bei: 1) Bering, Zur Biologie der physiologischen und pathologischen Wirkungen des Lichtes. (Lubarsch-Ostertag, *Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat.* Bd. 17. 1. Abt. I. 1914. S. 790.) — 2) Fischer, H., Blut- und Gallenfarbstoff. (*Ergebn. d. Physiol.* Bd. 15. 1916. S. 185.) — 3) Hausmann, Ueber einige Beziehungen der natürlichen Pigmente zum Licht. (*Ebenda.* Bd. 16. 1918. S. 228.) — 4) Bürgi und v. Traczewski, Ueber die biologischen und pharmakologischen Eigenschaften des Chlorophylls. (*Biochem. Zeitschr.* Bd. 98. 1919. S. 256.) — 5) Grigoriew, R., Ueber die blutbildenden Eigenschaften des Chlorophylls. (*Ebenda.* S. 284.) — 6) Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin (J. Springer) 1913. — 7) Zeiss, Ueber die Einwirkung des Eosins auf Bakterien, Hefen- und Schimmelpilze. (*Arch. f. Hyg.* Bd. 79. 1913. S. 141.) — 8) Seiffert und Bamberger, Der Chemismus elektiver Choleranährböden. (*Ebenda.* Bd. 85. 1916. S. 265.) — 9) Süpfle und Dengler, Die Bedeutung optimaler Nährböden zur Nährkultur bei der Prüfung von Desinfektionsverfahren. (*Ebenda.* Bd. 85. 1916. S. 189.) — 10) Gans, Ueber die Wirkung alkohol- und ätherlöslicher Pflanzenauszüge auf Bakterien. (*Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. u. Immunitätsforsch.* Bd. 2. 1914. S. 111.) — 11) Kämmerer, Das Verhalten von Bakterien gegen einige Blutfarbstoffderivate. (*Verhandl. d. 31. Kongr. f. inn. Med.* 1914. S. 704.) — 12) Churchman, Select. bacteric. action of stains allied to Gentian Violet. (*Journ. exp. Med.* Vol. 17. 1913. p. 373.) — 13) Derselbe, Select. bacteric. action of Methylenblue. (*Ibid.* Vol. 18. 1913. p. 187.) — 14) Eisenberg, Uebersicht siehe bei Deussen, Die Gramsche Bakterienfärbung, ihr Wesen und ihre Bedeutung. (*Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 85. 1918. S. 235.) — 15) Zeiss, l. c. 7. — 16) Bail, Ueber das Verhalten grampositiver und -negativer Bakterien zu oligodynamischen Wirkungen. (*Wien. med. Wochenschr.* 1919. S. 751.) — 17) Gassner, Neuere Untersuchungen über Metachromgelbnährböden. (*Centralbl. f. Bakt. Orig. Abt. I.* Bd. 81. 1918. S. 477.) — 18) Stöltzner, Zur Kenntnis der Gramschen Färbung. (*München. med. Wochenschr.* 1919. S. 675.) — 19) Derselbe, Das Indikationsgebiet des Tebelons. (*Ibid.* S. 675.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Verwendung der Spaltlampe für die experimentelle Pockendiagnose am Kaninchenauge.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel, Bakteriologische Abteilung (Abteilungsvorstand: Dr. J. L. Burckhardt) und der Universitäts-Augenklinik (Vorstand: Prof. Dr. A. Vogt).]

Von Dr. J. L. Burckhardt, Privatdozent für Hygiene, und  
Dr. Ed. Koby, I. Assistent der Augenklinik.

Mit 1 Tafel.

Es ist in erster Linie das Verdienst von Paul (1915), die Kornealimpfung des Kaninchens zur Pockendiagnose ausgebaut zu haben, nachdem schon frühere Forscher, die bei Paul angeführt sind, darunter besonders Guarnieri und Hückel, das mikroskopische und zum Teil auch das makroskopische Bild der vakzinierten Hornhaut beschrieben hatten.

Nach Paul wird die Kornea möglichst zart geritzt und mit dem Inhalte der verdächtigen Pustel bestrichen, der eventuell eingetrocknet und wieder aufgelöst sein kann. Nach ca. 36—48 Std. kann die makroskopische Untersuchung vorgenommen werden, indem man das Kaninchen tötet und den enukleierten Bulbus in Sublimatalkohol (gesättigte wäßrige Sublimatlösung 2 Teile, Alkohol absolut. 1 Teil) einlegt. Dabei treten nach  $\frac{1}{3}$ —1 Min. die spezifischen Herde als kreideweiße Pünktchen und kreisrunde, zum Teil konfluierende Knöpfchen zutage. Später trübt sich dann die ganze Kornea milchig, so daß nur noch die stärksten Herdchen sich abheben, während die punktförmigen, noch nicht über das Niveau erhabenen wieder verschwinden. Nach Paul ist dieses Phänomen „für Variola (bzw. Vakzine) so charakteristisch und pathognomisch, daß man mit absoluter Sicherheit schon makroskopisch die Varioladiagnose stellen kann“. Bei Verimpfung von Varizellenmaterial fehlt diese Erscheinung völlig, und auch bei keiner anderen entzündlichen Affektion ist sie zu beobachten.

In den weiteren Arbeiten (1917 und 1919) wird dann erst ein später auftretendes Phänomen, die Kraterbildung, d. h. die Entstehung von kreisrunden, wie mit einem Locheisen ausgestanzten Defekten im Zentrum des Variolahügels, nach 48—96 Std. als pathognomonisch erklärt.

Der Untersuchung des lebenden Auges mittels schräg auffallendem Licht und Lupe mißt Paul eine geringe Bedeutung bei und glaubt nicht, daß sich Verwechslungen mit entzündlichen Veränderungen ausschließen lassen.

Die Methode wurde von Gins mit gutem Erfolge angewendet. Immerhin macht er die Einschränkung, daß eitrige Affektionen, die sich z. B. in einem Falle als „perlschnurartige, gipsweiße Herde entlang den Kratzern“ äußerten, oder Substanzdefekte bei zu starker Impfung, wenigstens den Anfänger in der Diagnose irreführen können. Er empfiehlt daher sehr schwache Impfung mit äußerst feiner Nadel, so daß die Ritzstellen möglichst bald verschwinden. Die typischen Impfeffekte nach 48 Std. beschreibt er als „kreisrund, in der Mitte intensiver weiß als an den Randpartien, die allmählich in das normale Gewebe übergehen“. Die Größe beträgt  $\frac{1}{2}$ —2 mm Durchmesser. Nachweis der Guarnierischen Körperchen ist nach Gins anzustreben, soll aber lange nicht in allen Fällen möglich sein, da die kleinen Impfeffekte nur bei sehr mühsamer Untersuchung regelmäßig zu finden seien. Auch Gins gibt darum in den Fällen der Praxis die Diagnose nach dem Paulschen Tierversuche ab und glaubt, daß positiver Ausfall desselben für Variola beweisend sei, negativer dagegen nicht.

Friedemann und Gins geben in einer späteren Arbeit an, daß ihnen unter 1600 Diagnosen 6mal bei Varizellen ein positiver Tierversuch vorkam, schwach positive auch in sehr seltenen Fällen von anderen Exanthemen.

v. Gerloczy und Vas (1917) berichten in einer mit mehreren charakteristischen Abbildungen versehenen Arbeit über gute Resultate der „Paulschen Reaktion“, so daß die Brauchbarkeit der Methode im allgemeinen feststehen dürfte.

Aehnliche Befunde hatten noch Vas und Johan sowie Ungermann und Zölger. Für Einzelheiten der Impftechnik, Materialentnahme und den Prozentsatz der Erfolge in der Praxis verweisen wir auf die zitierten Arbeiten, besonders auf das Uebersichtsreferat von Paul (1919).

Unsere eigenen Untersuchungen bezweckten zunächst die Nachprüfung dieser Resultate zu Übungszwecken, und wir fanden dann in der Betrachtung der Affektion mit dem Kornealmikroskop und der Spaltlampe ein Hilfsmittel, das uns dem Paulschen Sublimatverfahren überlegen scheint, und das wir deshalb kurz beschreiben möchten.

**Technik:** Die Impfung wurde am Kaninchenauge vorgenommen, nachdem dieses mit 1—2 Tropfen 5-proz. Kokainlösung unempfindlich gemacht war. Die Impfstriche wurden mit einer sehr scharf geschliffenen Lanzette gemacht, die mit dem zu verimpfenden Material infiziert war. Größere Mengen des Materials wurden dann noch mit der Fläche der Lanzette auf der Kornea verstrichen. Zur Infektion verwandten wir meist Lancy-Vakzine, in 2 Fällen den Inhalt von menschlichen Impfpusteln.

Zur Untersuchung benützten wir das binokuläre Kornealmikroskop von Zeiss, und zwar wandten wir meist die 24-fache Vergrößerung (Obj. a 2, Ok. 2) an, mit der bequem zu arbeiten ist, und die für unsere Zwecke genügt. Die 68-fache Vergrößerung ergab demgegenüber wenig Vorteile. Die Messungen wurden mit 24-facher Vergrößerung und Meßokular gemacht.

Als Lichtquelle benützten wir gewöhnlich die Gullstrandsche Spaltlampe mit Nernst-Lampe, in 2 Versuchen mit der Vogtschen Mikrobogenspaltlampe; doch ist eine so starke Lichtquelle wie letztere zur Erkennung der vorliegenden, relativ groben Veränderungen nicht nötig.

Die Untersuchung kann am ungefärbten Auge vorgenommen werden. Besser werden vorher 1—2 Tropfen 5-proz. wässriger Fluoreszinzinlösung in das Auge gebracht. Das schönste Bild sieht man dann nach wenigen Minuten, bevor sich auch die intakten Teile der Kornea mit Fluoreszin imbibiert haben, was auch beim normalen Kaninchenauge in wechselnder Stärke der Fall ist. Für eine Vergleichung der später beschriebenen Einzelheiten sollte also die Zeit innerhalb der ersten 10 Min. nach der Einträufelung eingehalten werden. Nach einigen Stunden ist die Färbung ziemlich verschwunden, so daß das Auge dann für den Fall einer wiederholten Untersuchung wieder frisch gefärbt werden kann.

Zur ruhigen Haltung des Kaninchens dient der Operationskäfig nach Michel.

Die Untersuchung der enukleierten Augen in Sublimatalkohol nach Paul geschah genau nach seinen Vorschriften und wurde meist erst ca. 1 Std. nach der Beobachtung des lebenden Auges vorgenommen. Die vorhergehende Fluoreszinfärbung tut der Deutlichkeit des Sublimatbildes keinen Abbruch, wie wir uns an Kontrollen ohne Fluoreszin überzeugten.

Die Benützung des Kornealmikroskops und der Spaltlampe können wir hier nicht eingehend beschreiben. Wir erinnern nur daran, daß die Untersuchung auf mehrere Arten vorzunehmen ist, einmal bei direkter Beleuchtung, „im auffallenden Lichte“, wobei Epitheltrübungen und Infiltrate das Licht stärker reflektieren, also heller leuchten als die intakte Kornea. Auf diese Weise kann bei scharfer Einstellung des Spaltes auch die Tiefe der Infiltrate an der Seite des die Kornea durchdringenden Lichtbüschels beobachtet werden. Weiter untersucht man bei indirekter Beleuchtung, im Lichte, das von der Iris reflektiert wird, „im durchfallenden Lichte“. Dieselben Veränderungen erscheinen dann als Schatten. Diese Beleuchtungsart kann über der Pupille weniger gut angewandt werden, da die Linse weniger Licht reflektiert. Drittens wird die Untersuchung im vordern Spiegelbezirk nach Vogt<sup>1)</sup> verwandt, wobei in unserm Falle die Prominenz der Effloreszenzen deutlich zum Vorschein kommt, indem die Strahlen anders reflektiert werden als in der Umgebung.

Wir untersuchten auf diese Weise über 20 Kaninchen, deren eines Auge meist mit Vakzine geimpft war, während das andere zur Kontrolle teils bland geimpft, teils mit verschiedenen Bakterien, Diphtheriebazillen, Staphylo- und Streptokokken, wie sie auf Löffler-Platten aus Rachen-

1) Ueber die Technik dieser Untersuchung vgl. Vogt, Graefes Arch. f. Ophth. 101. 1920. S. 123.

abstrichen vorkamen, infiziert wurde. Manchmal wurden auch die beiden Augen zu verschiedener Zeit oder verschieden tief geritzt. Impfungen mit Lancy-Vakzine und mit dem Inhalte von Vakzinationspusteln ergaben übereinstimmende Resultate, nur graduell verschieden durch die größere Menge der Effloreszenzen bei Verwendung von Impfstoff.

Im folgenden wollen wir nicht die einzelnen Protokolle, sondern das charakteristische Bild in den für die Diagnose wichtigsten Stadien wiedergeben, wie sie bei Verwendung unserer Vakzine ungefähr nach 12–15 resp. 18–24 Std. eintraten.

I. Charakteristisch ausgebildete Effloreszenzen (Bild nach 18–24 Std.):

Ohne Fluoreszin sieht man bei auffallendem Lichte im Verlaufe der Impfstriche bei 24-facher Vergrößerung ca. 0,2 mm Durchmesser haltende, grauweiße, feinpunktierte, rundliche Herde. Bei 68-facher Vergrößerung besteht die Oberfläche derselben aus feinen Tröpfchen und Unebenheiten. Im durchfallenden Licht erscheinen diese Stellen als Herde konzentrischer Ringe mit einem Durchmesser bis zu 0,5 mm. Durch diese Ringe hindurch sieht man das Irispigment, das sonst im Kaninchenauge mehr oder weniger regelmäßige Flecken bildet, in konzentrischer Richtung verzogen und zu Ringen angeordnet. Die Beobachtung im Spiegelbezirk zeigt deutliche Prominenz der Herde.

Mit Fluoreszin (Abb. 1) sieht man im auffallenden Licht intensiv grünleuchtende, meist kreisrunde Herde von  $\frac{3}{25}$ — $\frac{5}{25}$ — $\frac{8}{25}$ , selten  $\frac{12}{25}$ — $\frac{14}{25}$  mm Durchmesser, die in die kaum gefärbte Kornea mittels eines schwächer leuchtenden Hofes übergehen. Im Zentrum besteht eine meist scharf ausgeschnittene runde ungefärbte Stelle von  $\frac{1}{25}$ — $\frac{2}{25}$  mm Durchmesser, so daß das typische Bild eines Kraters mit wallartig erhabenem Rande zustande kommt. Bei der intensiven Impfung mit Vakzine finden sich neben solchen einzelnen Effloreszenzen auf den Impfstrichen ganze Reihen von solchen, deren schwarze Zentren ebenso wie die umgebenden grünen Ringe teilweise konfluieren und so unregelmäßige Bilder hervorbringen. Auch einzelne Effloreszenzen sind nicht immer rund, sondern manchmal dem Impfstriche nach in die Länge gezogen (was vielleicht mit zu tiefer Impfung zusammenhängt). Die Impfstriche selbst sind zwischen den Effloreszenzen zum Teil als feinste, grün leuchtende Streifen von ca.  $\frac{1}{25}$  mm Breite, meist aber überhaupt nicht mehr sichtbar (was wohl ebenfalls mit der Tiefe der Impfung zusammenhängt).

Im durchfallenden Licht ist das Bild durch das Fluoreszin kaum geändert, und man sieht auch hier das zu konzentrischen Ringen verzogene Bild des Irispigmentes. Das Bild einer Effloreszenz erscheint hier bedeutend größer als im auffallenden Lichte, nämlich mit einem Durchmesser bis zu  $\frac{12}{25}$ — $\frac{16}{25}$  mm.

II. Typisches Vorstadium (Bild nach 12–15 Std.):

Die Impfstriche stellen um diese Zeit ohne Fluoreszinfärbung meist eben sichtbare, schwach leuchtende Streifen dar, in welchen die Effloreszenzen als mehr oder weniger deutliche, runde Verbreiterungen hervortreten.

Charakteristisch ist das Bild bei Fluoreszinfärbung. Man sieht hier die Impfstriche bei auffallendem Lichte als intensiv grüne, sehr oberflächliche Streifen von ca.  $\frac{2}{25}$  mm Breite. In ihrem Verlaufe bemerkt man ziemlich scharf abgegrenzte, noch stärker grünleuchtende Verbreiterungen, meist genau runde Scheiben von ca.  $\frac{3}{25}$ — $\frac{5}{25}$  mm Durchmesser. Die Begrenzung gegen die Umgebung ist nur in den ersten 10 Min. scharf; nach dieser Zeit tritt ein weniger stark leuchtender



Hof auf, der gegen die kaum gefärbte intakte Kornea einen Uebergang bildet (Abb. 2). Bei reichlichem Vorkommen geben diese Scheiben ein perlschnurartiges Bild, bei noch stärkerer Impfung können sie fast konfluieren. Bei tiefergehender Verletzung des Epithels sind sie oft nicht ganz rund, sondern dem Impfstriche nach ausgezogen.

Im durchfallenden Lichte sieht man schon in diesem Stadium die oben beschriebenen konzentrischen Kreise, welche bedeutend größer erscheinen, als die entsprechenden Scheiben im auffallenden Lichte (Abb. 3).

Längere Zeit nach der Fluoreszinfärbung können sich die Bilder in beiden Stadien ziemlich stark verändern. So sahen wir im 1. Stadium die grünleuchtenden Scheiben von deutlichen schwarzen Ringen umgeben, die sich von der mattgrünlichen Kornea abhoben. Im 2. Stadium entspricht diesem Bilde ein grüner Krater mit umgebendem schwarzen Ring. Bei dichtstehenden, auf dem Impfstriche konfluierenden Herden ergibt sich dann ein Anblick ähnlich der Primitivrinne des Embryos, nämlich 2 parallele Wülste, in der Mitte durch eine Furche getrennt, peripher dunkel umsäumt. In einem genau verfolgten Falle trat dieses Bild 40 Min. nach der Eintraufelung auf und veränderte sich nach weiteren 5 Min. wieder. Die Wülste zeigten an der breitesten Stelle  $1\frac{2}{3}$ , an den Einschnürungen  $\frac{5}{32}$  mm und weniger. Die Segmentierung hing unmittelbar zusammen mit dem Auftreten der Buckel resp. Krater.

Beim Betrachten der hinteren Hornhautfläche sieht man sehr ähnliche Bilder wie vorne; durch Verschieben der Lichtquelle läßt sich aber nachweisen, daß es sich nur um Schatten- und Lichteffekte, hervorgerufen durch die oberflächlichen Veränderungen, handelt.

Ähnlich regelmäßige Bilder fanden wir an den Augen ohne Impfstoff nicht, obgleich natürlich jede stärkere blande Impfung eine Epithelschädigung und damit eine leicht grünliche Stelle hinterläßt, während die Bakterienimpfungen zum Teil eine oberflächliche Keratitis und damit unregelmäßige, leicht oder stärker grünlich färbbare Bezirke hervorrufen. Niemals fanden wir dabei im durchfallenden Lichte die Ringbildung, die wir daher neben der Kraterform im auffallenden Lichte als besonderes Charakteristikum für die Diagnose auf Variolavakzine (oder ähnliche Erkrankungen)<sup>1)</sup> halten möchten, nur mit dem Unterschiede, daß die Ringbildung schon bedeutend früher auftritt.

Die Ringbildung oder konzentrische Schichtung läßt sich wohl einfach dadurch erklären, daß wir es bei den Vakzineeffloreszenzen mit oberflächlichen, fast völlig durchsichtigen Bläschen oder Buckeln zu tun haben, die hauptsächlich durch die histologisch nachweisbare Quellung der Epithelzellen und eventuell durch ein dazwischenliegendes Exsudat entstehen, während wir bei anderen Entzündungen hauptsächlich zellige und deshalb undurchsichtige Infiltrate vor uns haben. Es bildet sich also auf der Kornealoberfläche eine Art von Linse, durch die wir das verzerrte Bild der Iris sehen.

Daß eine solche Epithelquellung für Variolavakzine allein spezifisch sei, läßt sich a priori nicht erwarten, und diese Ansicht wird durch die Nachschrift bestätigt. Trotzdem kann das Symptom für die Differentialdiagnose ebenso gut verwertbar sein, wie die Paulsche Reaktion.

Im übrigen möchten wir nicht behaupten, daß man mit dem Kornealmikroskop imstande sei, die charakteristischen Bilder, färbbare Flecke und Krater, früher zu bemerken als mit dem Sublimatverfahren. Wir überzeugten uns im Gegenteil bald, daß mit dem Sublimat die feinsten Läsionen der Kornea, wie z. B. die frischen Impfstriche, bemerkbar werden. Die Befunde, die wir mit der Spaltlampe gemacht hatten, spezifische oder nicht spezifische Epitheldefekte und oberflächliche Infiltrate, konnten wir mit dem Paulschen Verfahren nach der Enukleation

1) Vgl. Nachschrift.

in jedem Falle bestätigen. Die charakteristischen Läsionen, sowohl die Krater wie die gipsweißen Herde, erschienen im Sublimatbilde bei oberflächlicher Betrachtung durch die Lupe sogar bedeutend größer als mit der Spaltlampe. Wir nahmen meist eine Größe von 0,5—1 mm an; Gins beschreibt Buckel von 0,5—2 mm. Genaue Messungen mittels des Kornealmikroskops am sublimatfixierten Bulbus, die dann Professor Vogt mit dem einen von uns vornahm, ergaben aber, daß die Buckelbildungen der Größe nach mit denjenigen des lebenden Auges (die kleinsten im betreffenden Falle von  $\frac{5}{25}$ — $\frac{7}{25}$ , die größten von  $\frac{14}{25}$ — $\frac{15}{25}$  mm) übereinstimmen. Um Mißverständnisse zu vermeiden, legen wir also Wert darauf, deutlich zu erklären, daß unsere Angaben über Sichtbarmachung der charakteristischen Effloreszenzen nach 12—24 Std. nicht direkt mit den Angaben von Paul können verglichen werden, der die Enukleation in seiner neuesten Arbeit erst nach 48—96 Std. verlangt; denn wir arbeiteten mit frischer Vakzine, er aber mit mehr oder weniger eingetrocknetem Material aus Variolapusteln.

Es muß natürlich noch an einem größeren Institut mit Pockenmaterial nachgeprüft werden, wie sich das von uns angegebene Verfahren in der Praxis bewährt. Auch die Spezifität der uns besonders früh auffallenden konzentrischen Schichtung der Effloreszenzen muß noch gegenüber anderem Material, speziell Varizellen, die uns ebenso wenig wie Variola zur Verfügung standen, geprüft werden. Wir teilen unsere Befunde mit in der Annahme, daß es für solche Institute von Vorteil sein werde, die Entwicklung der Affektion am lebenden Auge mikroskopisch studieren zu können, was bisher nicht bekannt war. Die Handhabung von Kornealmikroskop und Spaltlampe ist leicht zu lernen, die Spaltlampe erfreut sich immer größerer Verbreitung, und die Diagnose dürfte sich dadurch beschleunigen lassen, daß es mit Hilfe dieser Instrumente möglich ist, den Befund zu beliebiger Zeit aufzunehmen, ohne das Versuchstier zu töten, während nach dem Paulschen Verfahren die sichere Entwicklung der Effloreszenzen abgewartet werden muß, bevor man das Tier tötet und so die Weiterentwicklung des Prozesses abschneidet.

#### Nachschrift.

Zum Zwecke der Differentialdiagnose konnte Herr Professor Vogt nach Abschluß der Arbeit den Impfherpes (Löwenstein) der Kornea mit der Vakzinekeratitis vergleichen. Dabei zeigte es sich, daß bei beiden Erkrankungen ganz übereinstimmende Buckel (ähnlicher Größe, gleicher Form) auftreten. Das optische Bild ist dasselbe. Auch beim Impfherpes treten die erwähnten Schattenbilder der Korneahinterfläche und die konzentrischen Verziehungen der Iriszeichnungen auf, und das Sublimatauge zeigt bei Herpes die charakteristischen Paulschen Buckel. Ein differentialdiagnostisches Merkmal liegt aber einerseits in der Inkubationszeit (beim Herpes meist 2—3 Tage), andererseits in der Neigung der Buckel, sich zu dendritischen Zickzackfiguren zu ordnen. Die aneinander gereihten Buckel werden an typischen Stellen von einer derartigen Zickzackfurche durchschnitten. Abb. 4 stellt eine solche Partie, am Spaltlampenmikroskop betrachtet, dar. Das Impfmateriale stammt von einem menschlichen Herpes corneae.

#### Literaturverzeichnis.

Friedemann u. Gins, Deutsche med. Wochenschr. 1917. S. 1159. — von Gerloczy u. Vas, Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 377. — Gins, Deutsche med.

Wochenschr. 1916. S. 1118. — Guarnieri, zit. nach Paul. — Hückel, Die Vakzine-körperchen. (II. Supplementh. v. Zieglers Beitr. z. path. Anat. Jena (Gust. Fischer) 1898.) — Paul, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 267. — Paul, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1415. — Ders., Beitr. z. Klinik d. Infektionskrankh. Bd. 7. 1919. S. 267. — Ungermann u. Zülzer, Deutsche med. Wochenschr. 1919. Nr. 23. — Vas u. Johan, Wien. klin. Wochenschr. 1818.

#### Erklärung der Abbildungen.

Abb. 1. Charakteristisch ausgebildete „Krater“, z. T. konfluierend, an der Kreuzungsstelle zweier Impfstiche. Befund im auffallenden Lichte nach ca. 20 Std. mit Fluoreszinfärbung und 24-facher Vergrößerung.

Abb. 2. Vorstadium, rundliche Scheiben im Verlauf eines Impfstiches. Befund im auffallenden Lichte ca. 16 Std. nach der Impfung und ca. 30 Min. nach der Fluoreszinfärbung mit 24-facher Vergrößerung. (In den ersten Min. nach der Färbung erscheinen die Scheiben noch schärfer begrenzt.)

Abb. 3. Dieselben Effloreszenzen, wie Abb. 2, zur selben Zeit im reflektierten Lichte. Die Fluoreszinfärbung kommt nicht zur Geltung. Man sieht nur das zu Ringen verzogene Bild des Irispigmentes. 24-fache Vergrößerung.

Abb. 4. Herpespartie eines Kaninchenauges, fixiert in Sublimatalkohol, betrachtet mit der Spaltlampe bei 24-facher Vergrößerung.

#### Druckfehlerberichtigungen zum Aufsatz Schussnig: Beitrag zur Zytologie der Schizomyceten in Bd. 85. Heft 1.

Auf S.	6,	Zeile	23	v. o. soll es heißen:	anstatt	negativen — vegetativen
"	"	7,	18	" " " "	"	Kernen — Zellen
"	"	8,	6	" " " "	"	H. Schaudinn — F. Schaudinn
"	"	8,	16	" " " "	"	Mesotorische — Meritorische
"	"	8,	26	" " " "	"	Organismusgruppe — Organismengruppe
"	"	9,	6	" " " "	"	herrscht — besteht
"	"	9,	8	v. u. " "	"	bestimmende — bestimmte
"	"	10,	1	v. o. " "	"	Urbakterien — Eubakterien
"	"	10,	7	" " " "	"	polyenergiale — polyenergide
"	"	10,	9	" " " "	"	Kaloblast — Cöloblast
"	"	10,	11	" " " "	"	polyenergiale — polyenergide
"	"	10,	23	v. u. " "	"	Organium — Oogonium
"	"	10,	6	" " " "	"	wie — nur
"	"	11,	13	" " " "	"	auch — durch
"	"	11,	7	" " " "	"	Mortagon — Martagon
"	"	11,	4	" " " "	"	Milk — Milla
"	"	12,	5	" " " "	"	Montagon — Martagon

#### Inhalt.

**Baumgärtel, Tr.**, Zur Technik der Komplementgewinnung mittels Herzpunktion. Mit 1 Abbildung im Text, S. 281.

**Burckhardt, J. L.**, u. **Koby, Ed.**, Die Verwendung der Spaltlampe für die experimentelle Pockendiagnose am Kaninchenaugen. Mit 1 Tafel, S. 299.

**Ihle, J. E. W.**, Bemerkungen über die Gattungen *Cylicostomum*, *Poteriostomum* und *Craterostomum*. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 267.

**Knauer, Sigfrid**, Beobachtungen über Typhusbazillenträger. Mit 1 Kurve im Text, S. 237.

**Lichtenstein, Stefanie**, Ein Fall von spontaner Froschtuberkulose, S. 249.

**Lubinski, Herbert**, Zur Frage der atypischen *Lyssa humana*, S. 252.

**Plehn, Marianne**, Neue Parasiten in

Haut und Kiemen von Fischen. Mit 1 Tafel, S. 275

**Reichert, Fr.**, Beitrag zur Aetiologie der Encephalitis lethargica, S. 261.

**Reiter, Hans**, u. **Meyer, Franz**, Untersuchungen über die Grundlagen des Bolus alba-Verfahrens, S. 284.

**Rosenblath**, Ein Fall von Balantidien-erkrankung, S. 257.

**Toenniessen, E.**, Untersuchungen über die Kapsel (Gummihülle) der pathogenen Bakterien. II. Die chemische Beschaffenheit der Kapsel und ihr dadurch bedingtes Verhalten gegenüber der Fixierung und Färbung, S. 225.

**Zeiss, Heinz**, Beiträge zur biologischen Wirkung des Chlorophylls auf Mikroorganismen. I. Chlorophyll als Nährbodenbestandtheil, S. 290.

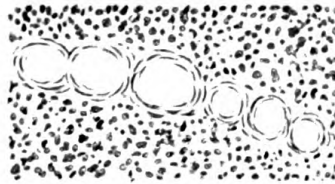
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



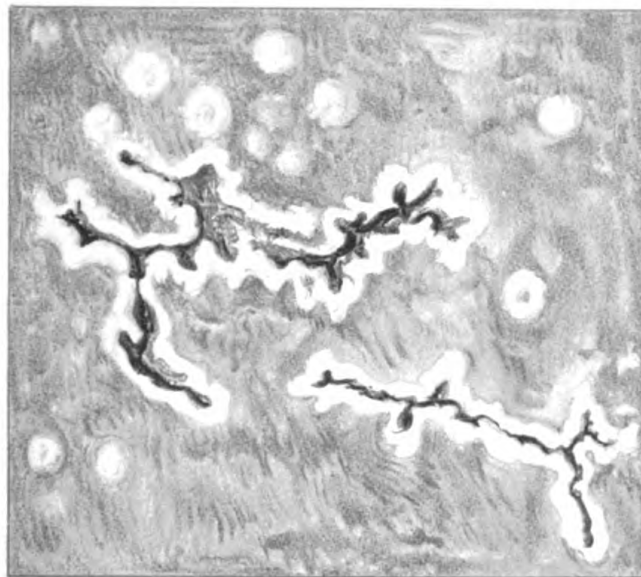
1.



2.



3.



4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

F. Weise [1911] Jena



# Nachruf

## für Hofrat Prof. Dr. Anton Weichselbaum.

Von Prof. Dr. Anton Ghon.

Die grundlegenden Ergebnisse der Arbeiten von R. Koch über Krankheitsursachen in ihrer allgemeinen Bedeutung sofort erkannt und in ihrer besonderen Bedeutung für die pathologische Anatomie richtig eingeschätzt zu haben, war eines der großen Verdienste Weichselbaums als Forscher. Durch eigene erfolgreiche, überall gewürdigte Arbeit und durch tatkräftige und uneigennützte Förderung der Arbeiten seiner Schüler hat Weichselbaum in dieser Erkenntnis bahnbrechend mitgewirkt, der ätiologischen Forschungsrichtung in der pathologischen Anatomie die ihr zukommende, heute allgemein anerkannte Stellung zu verschaffen.

Und sein reiches Wissen sowie seine große Erfahrung für sein Volk und für die Menschheit nutzbar gemacht zu haben, wo immer es möglich war, war ein anderes, nicht geringeres Verdienst Weichselbaums. Fast allen Fragen der Gesundheitspflege widmete er durch ungefähr 30 Jahre als Mitglied des Obersten Sanitätsrates im alten Oesterreich seine von ausgeprägtem Pflichtbewußtsein und Ueberzeugungstreue geleistete Arbeitskraft, vor allem der Bekämpfung der Tuberkulose und der Trunksucht.

So bedeutet sein Tod einen großen Verlust für die Wissenschaft und unser Volk. Aber bleiben wird, was er geschaffen hat. Seinem Andenken möge dieses Blatt der Erinnerung gelten.



Ausgegeben am 17. Januar 1921.

*Nachdruck verboten.*

## Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens.

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Bonn (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Privatdoz. Dr. F. W. Bach, Assist. am Inst. für Hygiene in Bonn.

Die serologische Sonderstellung der X-Stämme des *Bact. vulgare* (*Proteus*) hat seit Auffindung dieser eigenartigen Gruppe durch Weil und Felix fast alle Untersucher des Problems der sogenannten Weil-Felixschen Reaktion veranlaßt, sich auch mit dem kulturellen Verhalten dieser X-Stämme im Vergleich mit dem anderer, mit der Fleckfiebererkrankung nicht in irgendwelcher Beziehung stehender *Proteus*-Stämme zu beschäftigen.

Die Hoffnung, daß sich die Sonderstellung der sogenannten fleckfieberspezifischen *Proteus*-Stämme auch in kultureller Hinsicht bemerkbar machen würde, erfüllte sich nicht. Fast alle Untersucher<sup>1)</sup> kommen zu dem Resultat, daß sich keine durchgreifenden kulturellen Unterschiede auffinden lassen, und daß gelegentliche Differenzen nur graduelier, aber nicht prinzipieller Art sind. Kohlehydratvergärung, Gelatine- und Serumverflüssigung, Indolbildung sind die Punkte gewesen, auf die hierbei am meisten Wert gelegt worden ist. Ähnlich wie das wechselnde Gelatineverflüssigungsvermögen der *Proteus*-Stämme, ja selbst ein und desselben Stammes, wird auch das Verhalten den verschiedenen Kohlehydraten gegenüber zu beurteilen sein, worüber in den Angaben der Untersucher Differenzen bestehen.

In der Fähigkeit der *Proteus*-Stämme, Indol oder kein Indol zu bilden, scheint ein Ausnahmefall vorzuliegen, seit die Untersuchungen von van Loghem<sup>2)</sup> ergeben haben, daß es in dieser Beziehung charakteristisch (auch serologisch nach van Loghem) abgrenzbare Spielarten der *Proteus*-Gruppe gibt. Auf eine sonderbare Parallele zwischen Indolbildung und der Fähigkeit, Maltose und Saccharose zu spalten, ist in letzter Zeit von Braun und Schaeffer<sup>3)</sup> aufmerksam gemacht worden. Die von ihnen untersuchten indolbildenden Stämme spalteten Maltose und Saccharose, die nicht indolbildenden Stämme taten dies nicht. Zu jenen gehörten die X-Stämme, zu diesen alle Frankfurter *Proteus*-Stämme. Dies auffällige Verhalten veranlaßte Braun und Schaeffer zu der Angabe, daß es „konstante kulturelle Unterschiede“ zwischen den

1) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 33; 1917. Nr. 13. — Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 873. — Dietrich, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1570. — Epstein u. Morawetz, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 13. — Epstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 255. — Braun u. Salomon, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. S. 59; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1920. — Braun u. Schaeffer, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 409. — Schaeffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 430. — Croner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. — Zeiss, Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. — Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918; Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 21. — Schürer u. Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. — Jötten, Berlin. klinische Wochenschr. 1919. Nr. 12.

2) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919, daselbst Literatur.

3) Braun u. Schaeffer, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 409; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 430.



X- und den Nichtfleckfieberstämmen gebe, sie beschreiben aber selbst einen aus Galizien stammenden Nichtfleckfieberstamm mit den gleichen Eigenschaften (wohl identisch mit dem von Schaeffer beschriebenen Stamm 40789). Bei dieser Sachlage dürfte es richtiger sein, nicht von konstanten kulturellen Unterschieden, sondern nur von der Konstanz des kulturellen Verhaltens der X-Stämme, im Gegensatz zur Inkonstanz der Nichtfleckfieberstämmen, zu sprechen. Daß jener galizische Stamm kein X-Stamm ist, geht aus Schaeffers Angaben hervor, der ihn seiner serologischen Eigenschaften wegen nicht zu den X-Stämmen in die von Braun und Salomon<sup>1)</sup> aufgestellte Gruppe III der *Proteus*-Stämme stellt, sondern zu den Angehörigen der Gruppe II. Daß es auch Nichtfleckfieberstämmen mit gleichem serologischen Verhalten wie X-Stämme gibt, ist verschiedentlich beobachtet worden, auch von ihnen berichtet z. B. Wolff<sup>2)</sup>, daß keine prinzipiellen kulturellen Unterschiede gegenüber anderen *Proteus*-Stämmen festzustellen waren. Immerhin ist aber ein nicht-indolbildender X-Stamm bis jetzt noch nicht gefunden worden.

Auch in anderer Hinsicht haben sich bestimmte Unterschiede der X-Stämme nicht auffinden lassen. Die von Weil und Felix betonte Säureempfindlichkeit der X-Stämme hat sich nach den Untersuchungen von Schürer und Wolff<sup>3)</sup> auch nicht bestätigt. Ferner hat die Methode der Säureflockung keine bestimmten Unterschiede im chemisch-physikalischen Verhalten der spezifischen und unspezifischen Stämme ergeben<sup>4)</sup>. Ebenso sind die von Jakoby<sup>5)</sup> beobachteten Unterschiede der X- und gewöhnlichen *Proteus*-Stämme in der Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, wohl auffallend, haben aber doch keinen prinzipiellen Charakter. Wie Jakoby selbst sagt, zeichnet sich nach seinen Untersuchungen der *Proteus* durch die Variabilität seiner Fermentbildung aus, die sich durch geeignete Nährböden sogar künstlich beeinflussen läßt.

Diese letzten Befunde treffen wohl den Kern der Sache und zerstören eigentlich von vornherein jede Hoffnung, auf dem bis jetzt beschrittenen Wege weiterzukommen. Nur eine kulturelle Eigenschaft der *Proteus*-Stämme, die in Verbindung mit serologischen Maßnahmen eine Möglichkeit bieten könnte, Unterschiede der *Proteus*-Stämme nicht nur in ihrem Verhalten zu Fleckfieberserum aufzudecken, ist meines Wissens noch nicht untersucht worden, nämlich das sogenannte Hämotoxinbildungsvermögen, das nach Pribrams<sup>6)</sup> Bearbeitung der bakteriellen Hämotoxine und Antihämotoxine auch den *Proteus*-Stämmen zukommen soll.

Es könnten sich hier insofern Unterschiede der X- und anderen *Proteus*-Stämme ergeben, als nach den Untersuchungen von Meinicke<sup>7)</sup> die Hämotoxine der Angehörigen ein- und derselben Bakteriengruppe (Vibrionen) nicht identisch zu sein brauchen, wie sich aus der Wirkung der durch Immunisierung mit den betreffenden Hämotoxinen hergestellten antitoxinhaltigen Sera ergab. Andererseits zeigen aber Untersuchungen von Kraus<sup>8)</sup> in Gemeinschaft mit Pribram und Prantschhoff, daß, wie Pribram<sup>6)</sup> sich ausdrückt, die Hämotoxin-Antihämotoxinreaktion „weniger spezifisch als andere biologische Reaktionen“, z. B. Agglutination ist, d. h. innerhalb derselben Bakteriengruppe. Machen nun auch wiederum diese letzten Beobachtungen es nicht sehr wahrscheinlich, daß bei den verschiedenen *Proteus*-Stämmen die Hämotoxin-Antihämotoxinreaktion mit den spezifischen Serumreaktionen parallel gehen wird, so war es doch immerhin geboten, diese Frage zu untersuchen. Zudem ergaben sich bei Durchsicht der Literatur über die Hämotoxinbildung des *Proteus* nur wenige Angaben, die zudem in manchen wichtigen Punkten Unstimmigkeiten aufwiesen, so daß aus diesem Grunde eine Untersuchung der blutlösenden Eigenschaften des *Bact. vulgare* angezeigt erschien.

1) Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81 u. 82.

2) Wolff, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 483.

3) Schürer u. Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919.

4) Bach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920.

5) M. Jakoby, Biochem. Zeitschr. Bd. 79 u. 100. 1919.

6) Pribram, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 2.

7) Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905.

8) Kraus, Pribram, Prantschhoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.

9) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1354

Ehe ich auf diese spezielle Frage eingehe, sollen die von mir untersuchten *Proteus*-Stämme in ihrem allgemeinen kulturellen Verhalten kurz geschildert werden.

Es handelte sich um 9 X-Stämme und 14 *Proteus*-Stämme, die aus Material gezüchtet waren, das in keiner Beziehung zu Fleckfiebererkrankungen gestanden hatte (Stuhl, Urin, Eiter, Rachenabstriche von nicht-fleckfieberkranken Menschen, Jauche, verwesenden Tieren, Nahrungsmittelproben)<sup>1)</sup>. Die X-Stämme setzten sich aus 2 X 19-Stämmen, einem X 2-Stamm und 6 Xs-Stämmen zusammen. Die letzteren verdankte die Bakteriensammlung des Instituts Herrn Dr. Zeiss (Hamburg), der sie bei Fleckfiebererkrankungen gezüchtet hatte und hierüber im Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. S. 246 das Nähere mitgeteilt hat.

1) Das Schwärmvermögen auf 5-proz. Gelatine: Die unspezifischen Stämme hatten wegen des hauchartigen Wachstums auf Agar Veranlassung zur Züchtung gegeben; sie, wie auch die X-Stämme wurden aber vor Anstellung der Untersuchungen noch einmal auf das Schwärmvermögen auf 5-proz. Gelatine geprüft. Auf die Wichtigkeit dieser klassischen, von Hauser 1885 angegebenen Methode hat Heim<sup>2)</sup>,<sup>3)</sup> wieder aufmerksam gemacht und erneut darauf hingewiesen, daß sie am besten vor Täuschungen zu schützen vermag (Verwechselungen der *Forma Zenkeri* des *Bact. vulgare* mit *Bact. Zopf.* und anderen). Bei allen untersuchten 23 *Proteus*-Stämmen ließ sich das eigenartige Ausschwärmen einwandfrei feststellen<sup>4)</sup>.

2) Verhalten zu Kohlehydraten: Zur Untersuchung auf Kohlehydratvergärung kamen Dextrose, Galaktose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Maltose und Inulin; angereicht wurden noch die Alkohole Mannit und Dulzit (Mercksche Präparate). Von diesen Substanzen wurden 10-proz. Lösungen in Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung hergestellt, fraktioniert sterilisiert und hiervon je 0,5 ccm zu 4 ccm neutralem, 1-proz. Peptonwasser (+  $\frac{1}{2}$  Proz. NaCl) zugesetzt, so daß der Zucker-gehalt in jedem Kulturröhrchen 1 Proz. betrug. Die erste Ablesung der Resultate erfolgte nach 24-stünd. Aufenthalt im Brutschrank; die Kulturen blieben ferner bis zu 6 Tagen in Beobachtung.

Die Prüfung der Stämme in der oben beschriebenen Kulturflüssigkeit wählte ich, um möglichst einfache Kulturbedingungen zu haben. Allerdings hat diese Methode den Nachteil, daß Reduktionserscheinungen stören können, worauf bereits Buchner<sup>5)</sup> hingewiesen hat. Auch wenn man sich durch 2 Reihen von Kontrollen zu sichern versucht (von denen die eine die Zuckerkultur unbeimpft enthält, um auszuschließen, daß die Zuckerarten oder das Pepton allein reduzieren, von denen die andere eine Kultur der betreffenden Stämme in Lackmuslösung ohne Zucker-zusatz darstellt, um zu beobachten, daß die Stämme allein nicht Lack-

1) Die Stämme tragen folgende Bezeichnungen: 1) X-Stämme: X 19 RK, X 19 KW, X 2, Xs 1, Xs 5, Xs 9, Xs 17, Xs 18, Xs 19; 2) unspezifische Stämme: 931, 1190, 928, 1669, 479, 980, 1138, Schw., Maus, Beh., Welschb., Smmlg., Frklk., J1.

2) Heim, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913.

3) Boehnke, Dissert. Erlangen, 1913.

4) Stamm 1190 zeigte zur Zeit der Untersuchung ein so enormes Wachstumsvermögen, daß es auf den Gelatineplatten gar nicht zur Entsendung der Schwärmer kam. Nach Messungen mit dem Okularmikrometer betrug die Wachstumsschnelligkeit ca. 0,5 mm in  $\frac{1}{4}$  Std. Uebertrug man aber eine Oese des bereits verflüssigten Materiales auf eine frische 5-proz. Gelatineplatte, so konnte man die Entsendung von Schwärmern von diesem Material aus gut beobachten.

5) Buchner, Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885.

mus reduzieren), so kann man doch bei völlig einwandfreiem Verhalten dieser Kontrollen beobachten, daß manche oder alle Stämme in Verbindung mit den betreffenden Zuckerarten Lackmus reduzieren. Besonders deutlich trat die Erscheinung in der Inulin- und Dulzitkultur auf. Gegenüber Säurebildung ist in den meisten Fällen ohne Schwierigkeit die Entfärbung der Kultur charakteristisch genug, um Zweifel zu beheben. Andernfalls entscheidet Schütteln mit Luft oder ein neu anzustellender Versuch.

Die Ergebnisse der Zuckerkulturen meiner *Proteus*-Stämme waren folgende:

Inulin, Mannit, Dulzit wurden von keinem Stamme angegriffen, Galaktose und Dextrose wurden von allen Stämmen bereits nach 12 Std. vergoren.

Lävulose wurde innerhalb 48 Std. nur von den unspezifischen Stämmen Smmlg., 479, 980 angegriffen, später röteten die Kulturlösungen noch schwach J1, sowie Xs1, Xs9, Xs18, Xs19.

Zu Laktose verhielten sich die Stämme nicht gleichartig; X19RK, X2, 931, 928, 1669, Schw., Maus, J1 griffen die Lösung nicht an.

Lackmusmolke zeigte anfangs überall mehr oder weniger deutliche Rötung, nach wechselnder Zeit Umschlag in blau.

Maltose und Saccharose: Das Verhalten der Stämme zu diesen beiden Zuckern war besonders bedeutungsvoll wegen der von Schaeffer und Braun beschriebenen Parallele zwischen der Zersetzung dieser Zucker und der Indolbildung. Diese Beobachtungen konnte ich auch an meinen Stämmen bestätigen. Die Stämme 931, 928, Maus, 1138 vergoren weder Maltose noch Saccharose noch ließ sich Indol (mit Ehrlichs Reagentien) nachweisen. Stamm Welschb. machte allerdings insofern eine Ausnahme, als er in wiederholter Prüfung wohl Maltose angriff und Indol bildete, dagegen Saccharose unverändert ließ.

3) Bildung von Indol: Indolbildung wurde an 48-stünd. und älteren Kulturen untersucht, nach den Weisen von Salkowski, Ehrlich und mit NaOH-Nitroprussidnatrium-Eisessig. Die beiden letzten Methoden fielen stets übereinstimmend aus.

19 Stämme, darunter sämtliche X-Stämme bildeten in 48 Std. Indol (Nachweis mit allen 3 Methoden positiv), nur bei 4 Stämmen trat kein Indol auf: 931, 928, Maus, 1138. In diesen Kulturen ließ sich durch die Salkowskischen Reagentien jene Rotfärbung, in wechselnder Stärke, erzeugen, die nach Steensma<sup>1)</sup> nicht auf Indol zurückzuführen ist. Jedenfalls waren nicht-indolbildende Stämme sehr viel seltener als unter den von Braun und Schaeffer untersuchten *Proteus*-Stämmen.

4) Gelatine wurde nur von Stamm Xs17 nicht verflüssigt. Zur Prüfung auf Serum-Verflüssigung kamen bei 80° C schräg erstarrtes Pferde- und Menschenserum. Xs17, J1 und Frklk. verflüssigten nicht, obwohl sie Gelatine, wenn auch nur schwach, angriffen. Es ist dies deswegen bemerkenswert, da Schaeffer bei seinen *Proteus*-Stämmen niemals Gelatineverflüssigung ohne gleichzeitige (Rinder-)Serumverflüssigung beobachtet hat.

5) Schwefelwasserstoff wurde von allen Stämmen in längstens 8 Std. gebildet (Nachweis durch eingehängte Bleiessigpapierstreifen).

6) Das Hämotoxinbildungsvermögen der *Proteus*-Stämme:

## I. Die in der Literatur vorliegenden Angaben über die durch *Proteus* verursachte Blutlösung.

Nachdem von Ehrlich 1898 die Blutkörperchen auflösende Eigenschaft des Tetanusgiftes aufgefunden worden war, veröffentlichte 1900 Kraus und Clairmont<sup>2)</sup> Versuche, die unter anderen auch beim *Bact. vulgare* die Fähigkeit zur Blutzerstörung feststellten. Arbeiten der folgenden Zeit über die durch Bakterien hervorgerufene Blutauflösung beschäftigen sich mit dem *Proteus* selten, das Interesse wandte sich mehr den eigentlichen pathogenen Bakterien zu, unter diesen neben dem schon erwähnten *Bac. tetani* den Staphylo- und Streptokokken, dem *Bact. pyocyaneum*, vor allem den Vibrionen, bei denen die Blutkörperchen auflösende Fähigkeit

1) Steensma, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.

2) Kraus u. Clairmont, Wien. klin. Wochenschr. 1900. S. 49.

ihrer Kulturen für differentialdiagnostische Zwecke zu verwerten gesucht wurde. Versuche mit *Proteus* liegen vor allem einer Arbeit von Glaessner und Roscules<sup>1)</sup> 1906 zugrunde, des weiteren finden sich bei Bachrach und Grafe<sup>2)</sup> 1909, Kostrzewski<sup>3)</sup> 1911 Angaben über die sogenannte Hämolysinbildung des *Proteus*. In letzter Zeit hat sich Baerthlein<sup>4)</sup> 1914 mit einer größeren Anzahl von *Proteus*-Stämmen gelegentlich seiner Untersuchungen über die Art der Bakterienhämolyse beschäftigt, denen noch Untersuchungen von Schuster<sup>5)</sup> über hämolysierende und nicht hämolysierende Bakterien anzureihen wären, unter denen auch *Proteus* aufgeführt wird.

Die Untersuchungen über das Blutkörperchen auflösende Vermögen verschiedener Bakterienarten haben gezeigt, daß es sich dabei nicht immer um gleichartige Vorgänge handelt. Hämolyse ist nur die äußerliche Erscheinung einer Reihe ihrem inneren Wesen nach verschiedener Vorgänge. Von einer durch Bakterien bedingten spezifischen Hämolyse ist zu fordern, daß es sich dabei um die Wirkung eigenartiger, chemisch bis jetzt näher nicht definierbarer, direkt und im fertigen Zustande ausgaschiedener Sekretionsprodukte von Antigencharakter handelt<sup>6)</sup>, die als Gifte analog den Ektotoxinen gewisser Bakterien zu betrachten sind. Aus diesem Grunde verlangt auch die jetzt übliche Nomenklatur die Anwendung der Bezeichnung „Hämotoxine“ (Paltauf) für diese Sekretionsprodukte, an Stelle des früher gebrauchten Ausdruckes „Bakterienhämolysin“, da unter Lysinen spezifisch wirkende Antikörper von Ambozeptorcharakter zu verstehen sind. Die Forderung, daß durch Immunisation mit diesen Giften ein spezifisch wirkendes Antihämotoxin erzielt werden muß, ist am besten imstande, die Giftnatur jener Sekretionsprodukte zu beweisen, um dem Einwande zu begegnen, daß es sich bei der Hämolyse durch eine Bakterienart um unspezifische, chemisch einfach erklärbare Vorgänge handelt.

Das *Bact. vulgare*, der *Proteus*, wird in der Bearbeitung der bakteriellen Hämotoxine von Pribram<sup>7)</sup> neben den pyogenen Mikrokokken, dem *Bac. tetani*, *Bac. megatherium*, *Bac. anthracis*, *Bact. pestis* und den Vibrionen zu den Bakterienarten gerechnet, bei denen die Antigennatur der blutkörperchenlösenden Substanzen (Hämotoxine) sichergestellt sei. Im speziellen Teile von Pribrams Besprechung der Hämolysinbildung der einzelnen Mikroorganismen findet sich für den *Proteus* nur wenig angegeben. Es heißt da: „*Proteus* (Hämotoxinbildner); das Hämotoxin ist filtrierbar. Die Hämotoxinbildung in Bouillonkulturen wiesen Kraus und Clairmont nach, Blutagar wird innerhalb 48 Std. total aufgehellt“. Diese Angaben sind dürftig, vor allem befriedigt der Hinweis auf die Arbeit von Kraus und Clairmont nicht, da diese allein nicht absolut überzeugend für die Toxinnatur des „*Proteus*-Hämolysins“ ist. Kraus und Clairmont benutzten zu ihren Versuchen 4 *Proteus*-Stämme. Je 1 ccm des „Giftes“ wurde mit 15 ccm 5-proz. Kaninchen- oder Menschenblutaufschwemmung in physiol. Kochsalzlösung 2 Std. bei 37° C und 24 Std. bei Zimmertemperatur gehalten. *Proteus* 1, 2, 3, 4 gaben mit Kaninchenblut: „die oberste ca. 1/2 cm breite Zone farblos, die übrige Flüssigkeit dunkelrot, geringer Bodensatz“, mit Blut von Mensch I gaben *Proteus* 1—4; „die unteren 2/3, rotgelb, über dem Bodensatz eine ca. 1 cm hohe, dunkelrote Zone, Bodensatz“, mit Blut von Mensch II verhielt sich *Proteus* 3 wie bei Blut von Mensch I; *Proteus* 1, 2, 4 ergaben: „die Flüssigkeit farblos, über dem Bodensatz eine violettrote Zone“. Hinweise auf Alter der verwendeten Kulturen, auf Art des Nährbodens, immunisatorisch erzeugte Antikörper gegen das „Gift“ fehlen.

1) Glaessner u. Roscules, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 3. 1906. S. 314.

2) Bachrach u. Grafe, Arch. f. Hyg. Bd. 70. 1909. S. 1.

3) Kostrzewski, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 58. S. 263.

4) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 74. 1914. S. 201.

5) Schuster, Dissert. Gießen, 1911.

6) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909.

7) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1344 u. 1354.

In Pribrams Darstellung ist vor allem ein Hinweis auf die Arbeiten von Glaessner und Roscules sowie von Bachrach und Grafe zu vermissen, die für die Beurteilung der Proteus-Hämolyse sehr wichtig sind. Glaessner und Roscules arbeiteten mit wechselnder Technik, obgleich sie angeben, die Hämolyse in „üblicher“ Weise angestellt zu haben. Zum Teil verwenden sie Filtrate flüssiger Kultursubstrate, zum Teil Bakterienabschwemmungen, zum Teil Filtrate von Bakterienabschwemmungen. Die Verwendung von Filtraten aus Abschwemmungen fester Kulturen erscheint abweichend gegenüber dem sonst geübten Verfahren, für Filtrate flüssige Nährmedien zu benützen, zumal Verff. selbst angeben, daß zum Studium von Filtraten flüssige Kulturen Bedingung seien. Daß mit Abschwemmungen fester Kulturen gift-haltige Filtrate erzielt werden können, ist anzunehmen analog den Versuchen von H. Oppenheimer<sup>1)</sup> mit hämolysierenden Giften von Staphylokokken, von Kraus u. a. mit Giften von Dysenteriebakterien<sup>2)</sup>. Derartige gift-haltige Abschwemmungen sind unter dem Namen „Waschwassergifte“ bekannt, sie sind aber, wie schon aus der Natur der Sache hervorgeht, nicht ohne weiteres den „Giftlösungen“ gleichzusetzen, die durch allmähliches Wachstum der betreffenden Mikroorganismen in flüssigen Nährböden entstehen. In den Versuchen von Glaessner und Roscules erwiesen sich derartige Waschwassergifte wie auch Filtrate flüssiger Kulturen (Pukallfilter), abgesehen von Bakterienaufschwemmungen, als hämolytisch wirksam. Die Filtrate der Bakterienaufschwemmungen (24-stündige Agarkulturen) lösten in absteigenden Mengen 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung in starken Verdünnungen. Leider sind die Angaben dieser Autoren über die Herstellung der Aufschwemmungen und die Art der Verdünnungen so unklar, daß man auf die quantitativen Angaben zunächst nicht näher eingehen, sondern die Ergebnisse nur in qualitativer Hinsicht berücksichtigen kann. Jedenfalls läßt sich den Versuchen so viel entnehmen, daß Sauerstoffmangel keinen merklichen Einfluß, Zuckerzusatz zu Kultursubstraten dagegen einen schädlichen Einfluß auf die blutkörperchenlösenden Fähigkeiten des Proteus ausübte. Antihämolytisch wirkende Sera erzielten Verff. ferner durch 3malige Injektion zu je 1, 5, 10 ccm hämolytisch wirksamer Kulturfiltrate bei Kaninchen (subkutan?), Auswertungen dieser Sera ergeben deren Wirksamkeit bis zu Verdünnungen der Sera auf das 200-fache (1 ccm komplett lösendes Kulturfiltrat mit 1 ccm des Antiserums verschiedener Verdünnung gemischt.  $\frac{1}{2}$  Std. bei 37° C belassen, mit 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung — Menge? — versetzt).

Zu diesen Befunden von Glaessner und Roscules stehen die Angaben von Bachrach und Grafe teilweise in Widerspruch. Diesen Autoren gelang es nicht, beim Proteus wie auch bei einer Reihe anderer Mikroorganismen „ein genügend wirksames Hämolysin durch Filtration der Bouillonkulturen zu erlangen. Berkefeld- sowie Reichel-Filter hielten mit den Bakterienmassen auch das Hämolysin zurück. Karbolzusatz zerstörte dasselbe nach kurzer Zeit. Es blieb also nichts anderes übrig, als die Gesamtmenge der Hämolysin enthaltenden Bouillonkulturen mit den darin suspendierten Bakterien in gebrauchsfähige Portionen geteilt, in Kältemischungen zum Gefrieren zu bringen.“ Bachrach und Grafe verwendeten zum Nachweis der hämolysierenden Wirkung der untersuchten Bakterien verschiedene Blutarten. In Mischungen von je 2 ccm 3-proz. Blutaufschwemmung mit 1 ccm der entsprechend verdünnten Giftlösung, die für 2 Std. bei 37° C unter Aufschütteln und 24 Std. im Eisschrank belassen wurden, werteten sie die komplett lösende Dosis aus. Für Proteus betrug diese bei Verwendung von Schweineblut 0,015 ccm, für Hammel-, Hundeblut 0,03 ccm, für Kaninchen und Meerschweinchenblut 0,06 ccm, für Rinder- und Ziegenblut 0,5 ccm. Mit Pferde-, Tauben-, Hühnerblut erhielten sie bei der angegebenen Versuchsanordnung keine Hämolyse.

Weiterhin hat dann Kostrzewski sich mit der Hämolyse durch Proteus-Arten befaßt. Ein durch besondere Eigenschaften gekennzeichnet, sowie 3 gewöhnliche Proteus-Stämme lösten in mit Karbol oder Toluol abgetöteten flüssigen Kulturen sowie in Filtraten (Chamberland-, Berkefeld-Filter) Pferde-, Ochsen-, Hammel- und Kaninchenblut, bei Proteus mirabilis, Bact. Zenker I und II wurden dagegen blutlösende Eigenschaften vermißt. Zu seinen Untersuchungen wurde Kostrzewski durch das Auftreten einer auffallenden violetten Farbe in zu anderen Zwecken ausgeführten hämolytischen Versuchen veranlaßt, als deren Ursache er den erwähnten Proteus-Stamm anzusehen glaubt, der in lebenden Kulturen, nicht aber in abgetöteten oder in Filtraten, die Farbveränderung bei Blutlösung in hohem Grade hervorrief. Ähnliche, aber nicht so starke Violettfärbung gaben die anderen Proteus-Stämme.

Eine violettrote Verfärbung bei der Proteus-Hämolyse erwähnen übrigens schon

1) H. Oppenheimer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. S. 188.

2) s. Ficker, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 1. S. 100.

Kraus und Clairmont. Neuerdings hat auch Friedberger<sup>1)</sup> bei Versuchen mit Proteus X 19 auf eine besondere himbeerrote Verfärbung des gelösten Blutes aufmerksam gemacht, die aber nicht allein durch Proteus, sondern auch durch andere Mikroorganismen verursacht werden kann. Kostrzewski wie auch Friedberger fassen die Verfärbungen als Folge eines Reduktionsprozesses auf. Bereits 1901 hat Labbé<sup>2)</sup> angegeben, daß Proteus Oxyhämoglobin unter vorübergehender Bildung von Methämoglobin zu Hämoglobin reduzierte.

Schuster, der 1911 Proteus-Arten auf festen Blutnährböden prüfte, fand keine ausgesprochene Hämolyse für Menschen-, Ochsen-, Kalbs-, Hammel- und Schweineblut; nur ein Stamm Bact. Zenkeri löste schwach Kalbsblut. Die Verwendung fester Nährböden zum Nachweis der Hämolyse hat sich aber nach den eingehenden Untersuchungen Baerthleins nicht als vergleichbar mit der Hämolyse in flüssigen Nährböden erwiesen, worauf die so häufig differierenden Angaben über die hämolytischen Fähigkeiten der Bakterienarten zurückzuführen sind. Baerthlein benutzte zu seinen Versuchen 5-proz. Hammelblutagarplatten als feste Nährböden, zur Prüfung der Hämolyse in Flüssigkeiten wurden zu je 1 ccm physiol. Kochsalzlösung, in der  $\frac{1}{2}$  Oese des betreffenden Kulturmateri als aufgeschwemmt war, 5 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung zugesetzt. Platten wie Röhrchen wurden 48 Std. bei 37° C gehalten. „Von 12 geprüften Proteus-Stämmen gaben 11 prompte Blutlösung in den Aufschwemmungen, während 1 ausfiel, dagegen erzeugten sämtliche Kulturen auf der Blutplatte ... diffuse Transparenz (also keine Hofbildung!) und machten die festen Nährböden nicht durchsichtig“. Diesen letzten Befunden entsprechen auch die Angaben von Pfißram<sup>3)</sup>, daß Blutagar innerhalb 24 Std. aufgehell wird. Wahrscheinlich ist auch die Schustersche Angabe in diesem Sinne zu deuten.

Wie man sieht, ergaben die Untersuchungen der verschiedenen Autoren, soweit sie sich mit dem Proteus beschäftigen, kein eindeutiges Bild von der Hämotoxinbildung dieses Bakteriums. Weitgehende Uebereinstimmung zeigen die Angaben nur dann, wenn in irgendeiner Weise mit lebenden Bakterien gearbeitet worden ist, sei es in Kulturen oder Abschwemmungen, jedoch auch hier stehen sich die Angaben von Bachrach und Grafe und von Kostrzewski über die Lösung von Pferdeblut gegenüber. Dieselben Autoren weichen in ihren Angaben über die Zulässigkeit von Karbolzusatz zu lösenden Kulturen voneinander ab. Auffallend vor allem ist es, daß Filtrate sich den einen brauchbar erwiesen (Glaessner und Roscules, Kostrzewski), den anderen nicht (Bachrach und Grafe). Glaessner und Roscules benutzten Pukall-Filter, Kostrzewski Chamberland- und Berkefeld-Filter, Bachrach und Grafe Berkefeld- und Reichel-Filter.

Jedenfalls läßt sich aus dem Angeführten entnehmen, daß die sogenannte Hämotoxinbildung des Proteus nicht so sicher feststeht, wie man der Angabe Pfißrams nach erwarten dürfte. Im Grunde genommen ist nur die Arbeit von Glaessner und Roscules hierfür in Anspruch zu nehmen, da diese Autoren angeben, ein wirksames Anti-hämotoxin durch Immunisierung mit Kulturfiltraten erhalten zu haben. Kontrollversuche mit den Seren der unbehandelten Tiere fehlen allerdings. Es könnte immerhin die Möglichkeit bestehen, daß die Sera der betreffenden Tiere (Kaninchen) schon von vornherein gegen die Hämolyse gerichtete Eigenschaften besessen hätten, so daß die Antigennatur des hypothetischen „Giftes“ nicht voll erwiesen wäre. Diese Vermutung trifft im vorliegenden Falle vielleicht aus praktischen Gründen nicht zu, da bei 6 verschiedenen Tieren Antihämotoxinwirkung ihrer Sera festgestellt wurde, was wohl kaum durch Zufall erklärt werden könnte, sondern durch die Antigennatur der injizierten Filtrate. Zudem haben sich normale Kaninchensera anderen Bakterienhämotoxinen gegenüber zumeist als nicht hemmend erwiesen (Neisser und Wechsberg)<sup>4)</sup>,

1) Friedberger, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1390; München. med. Wochenschr. 1918. S. 805.

2) Labbé, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. 30. 1901. S. 664.

3) Pfißram, Handb. v. Kollie-Wassermann. 1. Aufl. Ergänzungsbd. 1. S. 326 u. 327; 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1354.

4) Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901.

allerdings beobachtete Meinicke<sup>1)</sup>, daß Kaninchensera mehrfach „ziemlich beträchtliche Antihämolyse“ gegenüber blutlösenden Vibrionenfiltraten enthielten.

## II. Eigene Versuche.

### a) Ueber das Auftreten der Hämolyse in flüssigen Proteuskulturen.

In der Absicht, durch Immunisierung von Tieren mit keimfreien hämolytisch wirksamen Filtraten spezifischer X-Stämme sowie unspezifischer *Proteus*-Stämme antihämotoxinhaltige Sera zu erhalten, um diese auf ihre Spezifität wechselseitig zu untersuchen, stieß ich gleich im Beginn der Untersuchungen auf die Tatsache, daß Bouillonkulturen von nur 2 Tagen Alter (bei 37° C) entweder überhaupt keine oder nur schwache blutlösende Eigenschaften (Hammelblut) zeigten. An einer noch nicht eingetretenen „Hämotoxin“-bildung konnte dies nicht liegen, da andererseits in einem orientierenden Vorversuche mit den 23 verschiedenen *Proteus*-Stämmen beimpfte Bouillonröhrchen, denen ich von vornherein 1 Tropfen gewaschenes, konzentriertes Hammelblut zugesetzt hatte, nach ca. 18 Std. Brutschrankaufenthalt bis auf einige Stämme komplette Lösung des Blutes aufwiesen. Es mußte also bereits innerhalb dieses Zeitraumes die „Hämotoxin“-bildung stattgefunden haben und schon wieder verschwunden sein. Wenn auch frühzeitige Hämolyse (innerhalb 24 Std.) bei verschiedenen Mikroorganismen bekannt ist, so war doch dies Resultat von vornherein nicht zu erwarten, da im allgemeinen die sogenannte Hämotoxinbildung anderer Mikroorganismen ungefähr um diese Zeit erst sich voll einzustellen beginnt und erst nach längerer Zeit verschwindet (vgl. z. B. die kurvenmäßigen Darstellungen der Hämotoxinbildung bei Staphylokokken bei Lubenau<sup>2)</sup>, auch war in den erwähnten Arbeiten über die *Proteus*-Hämolyse nirgends davon die Rede gewesen, daß die Hämotoxinbildung bei diesem Bakterium so außerordentlich früh einsetzte. Ueber ein auffallend frühzeitiges Verschwinden eines Hämolysins berichtet allerdings Meinicke<sup>3)</sup> bei seinem choleraähnlichen *Vibrio* 35, dessen Kulturen nur in den beiden ersten Tagen wirksam waren, vom dritten Tage an aber ein schnelles Nachlassen der hämolysierenden Wirkung zeigten. Es konnte sich auch im vorliegenden Falle nicht darum handeln, daß diese frühzeitige Hämolyse wesensverschieden von einer späteren, auf echte Hämotoxinbildung zu beziehenden Blutlösungsfähigkeit sei, da auch mehrere Tage alte Bouillonkulturen keine Lösungsfähigkeit für Blut aufwiesen. Ebenso war auszuschließen, daß etwa Hammelblut ungeeignet sei. Der Nährboden ferner konnte auch nicht als Ursache einer mangelhaften „Hämotoxin“-bildung anzusehen sein, da ja die Kulturen der einzelnen Stämme tatsächlich Lösungskraft zeigten. Es handelte sich bei diesem Versuche um eine Bouillon von 1,3 Proz. Fleischextrakt (Liebig), 1 Proz. Pepton (Witte), 0,5 Proz. Kochsalz von schwach alkalischer Reaktion (gegen Phenolphthalein), die zur Neutralisation auf 100 ccm 4 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Säure brauchte. Auf die Beziehungen zwischen Alkalität des Nährbodens und Hämotoxinbildung haben zuerst Neisser und Wechsberg<sup>4)</sup> in ihren

1) Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50.

2) Lubenau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. S. 356 u. 402.

3) Meinicke, Deutsch. med. Wochenschr. 1904. No. 29.

4) Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. S. 29.

Tabelle I.

Zu je 5 ccm Kulturflüssigkeit der betr. Stämme ist von Anfang an je 1 ccm 5-proz., 3mal gewaschenes Blut zugesetzt:

Vollständige Lösung des Blutes erfolgt innerhalb	Hammelblut-				Meer- schwein- chenblut- Bouillon	Rinder- blut- Bouillon	Pferde- blut- Bouillon	Menschen- blut- Bouillon
	Bouillon		Peptonwasser					
	a	b	1-proz.	5-proz.				
1-2 Std.	1190	1190	1190	.	.	.	.	.
	.	1669	.	.	.	.	.	.
	.	980	.	.	.	.	.	.
	.	1138	.	.	.	.	.	.
	.	X 19 RK	.	.	.	.	.	.
2-3 Std.	.	Xs 5	.	.	.	.	.	.
	.	Welschb.	479	.	.	.	.	.
	.	Bch.	X 2	.	.	.	.	.
	1669	Xs 9	X 19 RK	.	.	.	.	.
	1138	Xs 19	1669	.	.	.	.	.
	Schw.	X 2	Xs 19	.	.	1669	1190	.
	Xs 5	Xs 1	Xs 5	.	.	980	1138	.
	Xs 9	931	980	.	.	1190	479	.
	X 19 RK	479	1138	.	.	1138	.	.
	X 2	Schw.	Xs 9	.	.	.	.	.
3-4 Std.	.	Smmlg.	.	.	.	.	.	.
	980	Xs 18	Bch.	.	.	X 2	980	980
	Bch.	X 19 KW	Xs 1	.	.	X 19 RK	Schw.	1190
	Xs 19	928	X 19 KW	.	.	Schw.	Bch.	1669
	Xs 1	J 1	Schw.	.	.	Bch.	X 2	Schw.
	X 19 KW	Maus	931	.	.	Xs 1	Xs 19	Xs 19
	479	Frklk.	Xs 18	1190	1190	Xs 5	Xs 5	X 2
	Welschb.	.	Welschb.	1669	1669	X 19 RK	X 19 RK	X 19 RK
	931	.	Smmlg.	980	479	Xs 9	1669	Xs 5
	928	.	.	X 19 RK	Xs 9	Xs 18	Xs 18	1138
4-5 Std.	.	.	.	.	X 2	.	X 19 KW	Xs 1
	.	.	.	.	Xs 5	.	Xs 9	Xs 9
	.	.	.	.	Xs 19	X 19 KW	Maus	.
	.	.	.	.	Xs 9	Xs 1	Welschb.	.
	.	.	.	Xs 1	X 19 RK	Smmlg.	J 1	928
	.	.	X 19 KW	1138	1138	Frklk.	Frklk.	Welschb.
	.	.	.	Schw.	Frklk.	.	.	Smmlg.
	.	.	.	1138	J 1	931	.	J 1
	.	.	.	Bch.	Smmlg.	X 19 KW	.	Maus
	.	.	.	.	.	.	.	.

Die Hälfte der Stunden ist durch — bezeichnet.



Voll- ständige Lösung des Blutes erfolgt innerhalb	Hammelblut-				Meer- schwein- chenblut- Bouillon	Rinder- blut- Bouillon	Pferde- blut- Bouillon	Menschen- blut- Bouillon
	Bouillon		Peptonwasser					
	a	b	1-proz.	5-proz.				
5—6 Std.	Frklk.	Xs 17	Maus	.	.	.	Smmlg.	Frklk.
	J 1	.	Frklk.	.	Welschb.	.	.	X 19 KW
	Maus	.		Smmlg.	Xs 18	.	.	.
	Xs 17	.	.	.	Xs 17	.	.	.
	Xs 18	.	.	.	.	.	.	.
6—7 Std.	Smmlg.	.	.	Xs 18	931, 928		.	.
		.	.	.	Maus, Bch.	Xs 17	.	.
			s. Anm. 1	s. Anm. 2			s. Anm. 1	s. Anm. 1

Untersuchungen über die Hämotoxinbildung der Staphylokokken hingewiesen; sie fanden eine etwas alkalische Bouillon am geeignetsten. Beim *Proteus* hatte aber stärkeres Alkalisieren der Bouillon, wie ich mich überzeugen konnte, keinen fördernden Einfluß auf die hämolysierenden Eigenschaften.

In einem weiteren Versuche suchte ich nun unter Innehaltung quantitativer Verhältnisse dem Zeitpunkte der Blutlösung bei den einzelnen Stämmen genauer nachzugehen. Verwendet wurden je 5 ccm Bouillon, beimpft mit je 3 Oesen einer 24-stünd. Bouillonkultur der betreffenden Stämme. Zugesezt wurde von Anfang an je 1 ccm 5-proz. gewaschenes Blut. Während des Aufenthaltes im Brutschranke wurde gelegentlich die Blutbouillon vorsichtig geschüttelt, damit das Blut in Suspension blieb, wie es auch Bachrach und Grafe taten, da sonst bei längerem Stehen die Blutkörperchen zu schnell zu Boden sinken und wahrscheinlich durch Hämagglutination zu einem festen Bodensatz verbacken, der der Wirkung blutlösender Substanzen nicht leicht zugänglich ist. Gruppiert man die Stämme ihrer Lösungsschnelligkeit nach, so erhält man vorstehendes Bild (s. Tab. I).

Aus dieser Tabelle läßt sich einmal, was auch Bachrach und Grafe angeben, die verschiedene relative Resistenz der einzelnen Blutarten gegenüber dem Angriff der blutlösenden Substanz feststellen, die sich durch im ganzen zeitlich früheren oder späteren Eintritt der Hämolyse offenbart, zum anderen gewisse Eigentümlichkeiten der einzelnen Stämme in der Produktion des hämolysierenden Agens; drittens ergibt sich, daß prinzipielle Unterschiede zwischen spezifischen und unspezifischen *Proteus*-Stämmen nicht bestehen.

Eine gewisse natürliche Gruppierung findet man z. B. bei den Stämmen 1190, 1669, 980, Schw., die fast immer zusammen als erste die Blutarten lösen. Zusammen gehören die Stämme Frklk., Smmlg., J 1, Maus, Xs 17, die dies meistens erst verhältnismäßig spät tun. Besonders der letzte Stamm findet sich stets als einer der letzten, er ver-

1) Xs 17: nach 9 Std. noch keine völlige Hämolyse!

2) Nach 9 Std. in Kulturen von: Maus, Welschb., 931 Frklk. fast totale Hämolyse; 479, J 1 deutliche Hämolyse; 928, Xs 17 Spur Hämolyse.

mochte z. B. Menschenblut in Bouillon und auch Hammelblut in Peptonwasser nicht ganz zur Lösung zu bringen. Andere Stämme dagegen zeigen ein wechselndes Verhalten, sie stehen bald an der Spitze, bald am Ende. Diese quantitativen Verschiedenheiten kann man am besten an den Parallelversuchen mit Hammelblutbouillon (a und b der Tab.) erkennen.

Pferdeblut wurde in meinem Versuche gelöst, in Uebereinstimmung mit der Angabe von Kostrzewski, im Gegensatz zu der von Bachrach und Grafe.

Nachdem die angeführten Versuche gezeigt hatten, daß die Produktion eines hämolysierenden Agens in allen Proteus-Kulturen bereits ganz außerordentlich früh beginnt und nach verhältnismäßig kurzer Zeit wieder verschwindet, war es die nächstliegende Aufgabe, festzustellen, wann man mit einer Höchstwirkung der beimpften Kulturen rechnen konnte. Diese mußte sich durch die Schnelligkeit der Lösung einer nach verschiedenen Zeiten zugesetzten Blutmenge äußern. Es wurden zu diesem Zwecke von den spezifischen und unspezifischen Stämmen einige besonders gut hämolysierende Stämme und zum Vergleich ein schwer lösender Stamm ausgewählt, in der angegebenen Weise 5 ccm Bouillon mit 3 Oesen einer Bouillonkultur beimpft, nach Ablauf gewisser Zeiten 1 ccm 5-proz. Hammelblut zugesetzt und die Zeitdauer bis zum Eintritt der kompletten Hämolysen aufgezeichnet.

Tabelle II.

Alter der Kultur in Stunden von:	2	3	4	5	6	7	8	9	13—14
Stamm Schw.			20'	7'	3—4'	9'	10'	5'	in 2 Std. Spur
1190	20'	8'	6'	5'	3'	5'	5'	5'	ca. 1 „
„ Smmlg.	1 Std. 15'	1 Std.	1 Std.	20'	20'	23'	.	.	in 2 „ nicht komplett
„ X 19 RK	.	.	30'	16'	10'	15'	23'	.	:
„ Xs 5	.	15'	5'	7'	10'	10'	.	.	:

Das Maximum der Wirkung ist diesen Aufzeichnungen nach bei leicht wie schwer lösenden Stämmen in ungefähr 6 Std. erreicht, nur die Schnelligkeit der Lösung ist verschieden. Die angeführten Zeiten sind aus Beobachtungen untereinander vergleichbarer Versuchsreihen gewonnen, was Nährboden und Impfmateriel anbelangt. Selbstverständlich waren Differenzen der Zeiten bei den zahlreichen, stets bei anderen Versuchen zur Sicherung der genügenden Wirksamkeit der Kulturen ausgeführten Kontrollen zu beobachten. Für die stark lösenden Stämme stimmten auch die später aufgezeichneten Lösungszeiten mit den oben wiedergegebenen Zahlen fast stets überein, bei den schwach lösenden waren aber manchmal erhebliche Abweichungen festzustellen.

24 Std. alte, bei 37° C gehaltene Kulturen übten keine sichere Hämolysen mehr aus. Von den 9 X-Stämmen löste nur Xs 9 in 2 Std. 1 ccm 5-proz. Hammelblut fast komplett, nach weiteren 12 Std. Eis-schränkaufenthalt völlig, während in den Kulturen der übrigen X-Stämme nach diesen Zeiten überall noch große ungelöste Kuppen vorhanden waren. Von den 14 unspezifischen Stämmen wurde die gleiche Blutmenge nur von Stamm 931 und 980 in 2 Std. völlig, von Stamm 1190 fast komplett gelöst, von allen übrigen Stämmen war auch nach weiteren

12 Std. im Eisschrank das Blut entweder überhaupt nicht oder nur in Spuren gelöst.

Hielt man aber 6 Std. alte Kulturen für 24 Std. im Eisschrank, so erhielt sich die hämolysierende Wirkung, wenn auch unsicher, desgleichen auch, wenn sie bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Es scheint also bei 37° C eine Zerstörung oder Veränderung des hämolysierenden Agens zu erfolgen, wie dies von bakteriellen Hämotoxinen angegeben wird.

Jedenfalls machten die gesammelten Erfahrungen es nötig, mit jungen Kulturen zu arbeiten. Der frühere Eintritt kompletter Hämolyse in Kulturen, denen von Anfang an Blut zugesetzt war im Gegensatz zu denen, bei denen Blutzusatz erst nach gewissen Zeiten erfolgte, ist wohl auf eine Summationswirkung bei allmählich sich bildenden hämolysierenden Substanzen zurückzuführen und abhängig von der bei den verschiedenen Stämmen quantitativ verschieden großen Produktion des hämolysierenden Agens, ebenso wie auch die kürzere oder längere Dauer der Komplettlösungszeiten hierauf zu beziehen ist. Je reichlicher die Menge der hämolytisch wirkenden Substanz vorhanden ist, um so schneller ist bei gleich großem Blutzusatz die Geschwindigkeit, mit der Hämolyse eintritt; die Menge kann aber recht klein sein, um denselben Endeffekt zu ergeben.

#### b) Versuche über die Auswertung des hämolysierenden Agens der Proteuskulturen.

##### Filtrationsversuche.

Nach den verschiedenen Vorversuchen war es das Gegebene, eine quantitative Auswertung der hämolysierenden Substanz vorzunehmen. Nach Analogie ähnlicher, bei anderen Bakterien ausgeführten Untersuchungen versuchte ich daher, wirksame Kulturen zu filtrieren, um den Einfluß der lebenden Bakterien auszuschalten, die eine Neubildung der hämolysierenden Substanz während des Versuchs verursachen konnten. Aber bereits die ersten Versuche mit stark wirksamen Bouillonkulturen stark und reichlich hämolysierender Stämme ergaben, daß durch keimfreie Filtration die hämolytische Wirkung so stark beeinträchtigt wurde, daß ein Arbeiten mit einem derart schwach wirksamen Filtrat nicht viel Erfolg versprach. Von den in dieser Richtung ausgeführten Versuchen sei folgendes Beispiel angeführt: eine 5½-stündige 5 ccm-Kultur des Stammes Schw. löste 1 ccm 5-proz. Hammelblut in 5 Min. komplett, das keimfreie Filtrat der gleichalten, mit demselben Material beimpften und in derselben Bouillon gezüchteten Kultur zeigte erst nach 1 Std. schwache, in 2 Std. aber noch nicht einmal komplette Hämolyse (mikroskopische Kontrolle). Zeigten sich Filtrate aber stärker wirksam, so erwiesen sie sich, obwohl augenscheinlich klar, als nicht keimfrei. Jedenfalls lag auch hier die so häufig beobachtete Tatsache vor, daß durch Filtration eine Abschwächung einer „Gift“wirkung erfolgte. Daß speziell bei Hämotoxinen mit unter Umständen großen Verlusten an wirksamer Substanz bei Filtration zu rechnen ist, kann man den verschiedensten Angaben entnehmen<sup>1)</sup>. Einen ausgezeichneten Vergleich der Hämotoxin-

1) Landsteiner, Handb. d. Biochem. Bd. 2, 1. 1910. S. 452. — Neißer, Handb. v. Kolloid und Wassermann, 2. Aufl. Bd. 4. S. 372. — Kraus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. S. 90. — Kraus u. Prantschoff, Ebenda. Bd. 41. 1906. S. 377. — Fränkel u. Baumann, München. med. Wochenschr. 1905. Nr. 20. —

wirkung filtrierter und unfiltrierter Kulturen ermöglicht eine Tabelle von Meinicke<sup>1)</sup>.

Die nicht vorauszusehenden, sozusagen individuell verschiedenen Eigenheiten der starren Filter, die nicht an irgendein bestimmtes Fabrikat gebunden sind, machen es daher überhaupt unmöglich, die durch Bakterienkulturen erzeugte Menge einer hämolysierenden Substanz (Hämotoxin) quantitativ zu bestimmen. Auch die Verwendung ein und desselben Filters kann nicht helfen; denn einmal kann das Filter aus den ersten durchgehenden Mengen gewisse Quantitäten zurückhalten, während es weiterhin besser durchlassend wird (diese Tatsache hat bereits 1888 Sirotnin<sup>2)</sup> an Chamberland-Filtern beobachtet), andererseits sind gebrauchte und wieder sterilisierte Kerzen manchmal unbrauchbar, wie dies Neisser<sup>3)</sup> gerade für ein Hämotoxin (das der Staphylokokken) angibt und wie ich auch bei den *Proteus*-Versuchen beobachten konnte.

Es ist früher schon erwähnt worden, daß Bachrach und Grafe bei Filtration von *Proteus*-Kulturen keine genügend wirksamen Filtrate erzielen konnten, während dies Glaessner und Roscules anscheinend ohne besondere Schwierigkeiten gelungen ist.

#### Ausschleuderungsversuche.

Die idealste Methode, die hämolysierende Wirkung der Kulturen quantitativ zu untersuchen, wäre das restlose Ausschleudern der Bakterien aus den flüssigen Kulturen gewesen<sup>4)</sup>. Diese Methode hat z. B. Löwy<sup>5)</sup> für Vibrionen benutzt, allerdings brauchte er 5—6 Std. langes scharfes Zentrifugieren. Diese lange Zeit konnte ich der mir zur Verfügung stehenden, sehr leistungsfähigen Zentrifuge bei hoher Tourenzahl nicht zumuten. Ich bezweifle aber auch trotzdem, daß beim *Proteus* befriedigende Resultate zu erzielen gewesen wären, da dieser Mikroorganismus wohl infolge seiner außerordentlichen Beweglichkeit oder seiner geringen spezifischen Schwere schwer ausschleuderbar erscheint. Bei anderen Mikroorganismen mag das leichter der Fall sein, jedenfalls konnte ich in verschiedenen Versuchen, bis sich deren Fortsetzung durch Heißlaufen der Achsen verbot, keine völlige Klärung der Kulturen erzielen.

Die Methode des restlosen Ausschleuderns von Bakterien aus ihrer Kulturflüssigkeit ist überhaupt die einzig denkbare, die theoretisch allen Forderungen für eine exakte Untersuchung gewisser von oder durch Mikroorganismen gebildeter „Gift“stoffe entspräche, wenn sie eben mit genügender Sicherheit gelänge. Wenn auf die Erzielung keimfreier wirksamer Filtrate, auch z. B. bei der Hämolysen durch Bakterien, verschiedenlich großes Gewicht gelegt wird, so kann das nur bedingt anzuerkennen sein. Sicherlich dann, wenn es sich um eine eingehende qualitative Untersuchung des „Giftes“ handelt. Die Messung der quantitativen Produktion ist an Filtraten nicht exakt möglich, da sie durch die unberechenbaren Launen der Filter illusorisch gemacht werden kann

v. Wunschheim, Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1905. — Oppenheimer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911; u. a.

1) Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905.

2) Sirotnin, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. S. 262.

3) Neisser, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 4. S. 372.

4) Siehe dazu Ficker, Handb. d. Hyg. v. Gruber, Rubner, Ficker, Bd. 3. S. 117.

5) Löwy, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915.

und man niemals weiß, wie hoch die Abschwächung zu bewerten ist, die unter Umständen eine totale sein kann. Es ist daher falsch, wie das verschiedentlich geschehen ist, die Unwirksamkeit eines Filtrates als Beweis für das Nichtvorhandensein eines „Giftes“ anzusehen, sei es nun ein Toxin im eigentlichen Sinne oder ein seiner Konstitution nach definierbarer chemischer Körper. Dies könnte man nach der Umschreibung Pribrams<sup>1)</sup> des Begriffes Bakterienhämotoxin vermuten, der nur für diejenigen Bakterienhämolyse die Bezeichnung Hämotoxine für berechtigt hält, die „sich wie echte Toxine verhalten, also von den Bakterien durch Filtration zu trennen sind und im Tierkörper Antitoxine erzeugen“. Die Erfüllung der letzten Forderung kann die Giftnatur der hämolysierenden Stoffe am besten klarstellen, da damit ihre Antigenatur bewiesen wird. Denn andererseits können auch solche Stoffe Filter passieren, die keine Toxine, sondern chemisch definierbare Substanzen sind.

Die Unwirksamkeit eines Filtrates ist weiterhin auch ebensowenig ein Beweis dafür, daß es sich bei einer in einer lebenden Kultur beobachteten Giftwirkung nicht um die Wirkung in der Kulturflüssigkeit gelöster Substanzen handelt. Es wird von verschiedenen Seiten<sup>2)</sup> bei der Auflösung roter Blutkörperchen auf die „direkte Einwirkung“ der lebenden Bakterien in nichtfiltrierten Kulturen hingewiesen. Worin aber diese direkte Einwirkung bestehen soll, erscheint schwer verständlich, da man sich dann die Wirkung gleichsam als ein Angefressenwerden der Blutkörperchen durch die Bakterien vorstellen müßte! In jedem Falle einer Hämolyse kann es sich doch nur um die Wirkung irgendwie gelöster Substanzen handeln, seien sie nun direkt von den Bakterien als solche abgesondert oder indirekt aus dem Nährmaterial durch dessen Umsetzung hervorgegangen. Auch wenn man an eine katalytische Wirkung der Bakterienleiber denken möchte — eine Vermutung, die v. Wunschheim<sup>3)</sup> geäußert hat — so wäre auch hier die Wirkung der Bakterien nur eine indirekte. Der Ausdruck „direkte Einwirkung“ erscheint daher schief und ist wohl nur eine Verlegenheitsbezeichnung für Vorgänge, deren schwer zu erforschende Gründe nicht bekannt sind. Auch Kruse<sup>4)</sup> wendet sich dagegen, daß die Hämolyse bei Gegenwart lebender Bakterien wesensverschieden von der in Filtraten sein solle. Seiner Auffassung nach beruhen die Differenzen darauf, daß die „Hämolyse der lebenden Bakterien . . . viel vergänglicher sind als die hämolysierenden Stoffe, die wir durch Filtration usw. von den lebenden Bakterien trennen können“.

Daß es sich auch bei der Proteus-Hämolyse um die Wirkung in der Kulturflüssigkeit gelöster Substanzen handelt, trotzdem Filtrate nicht oder nur mangelhaft wirksam sind, kann man der Beobachtung des Vorganges unter dem Mikroskop entnehmen. In einer nur wenige Stunden alten, schon stark blutlösenden Kultur sind nur verhältnismäßig wenige Bakterien zu sehen, die sich lebhaft durch das Gesichtsfeld bewegen. Ein Blutkörperchen nach dem anderen blaßt plötzlich ab, verliert sein Hämoglobin und ist noch einige Zeit als Schatten erkennbar.

1) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1329.

2) z. B. Meinicke, Deutsch. med. Wochenschr. 1904. Nr. 23; Pribram, a. a. O. S. 1329.

3) v. Wunschheim, Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1909.

4) Kruse, Allgem. Mikrobiol. S. 1002.

### Dialysierversuche.

Ebensowenig wie durch Filtration gelang es mir, das hämolysierende Agens von den Bakterien zu trennen, indem ich einige stark lösende Stämme in Abderhaldenschen Dialysierhülsen züchtete und als Außenflüssigkeit entweder NaCl-Lösung oder Bouillon verwendete, eine Methode, die Wollmann<sup>1)</sup> bei Vibrionen angeblich mit Erfolg angewendet hat. Und zwar mißlangen die Versuche aus dem Grunde, weil die Proteusbakterien die Pergamentschläuche durchwuchsen und dann natürlich auch die Außenflüssigkeit hämolysierte. Es konnte sich tatsächlich nur um ein Durchwachsen handeln und nicht etwa um ein Ueberklettern des Hülsenrandes, das bei feucht sterilisierten und daher feucht bleibenden Hülsen zu vermuten war, da sowohl bei Verwendung trockener Hülsen wie feuchter, deren Rand ich in erhitztem Paraffin getränkt hatte, die Bakterien in der Außenflüssigkeit erschienen. Es mag dahingestellt sein, ob es sich bei den Wollmannschen Versuchen nicht auch um ein Durchwachsen gehandelt hat, zumal nach der angegebenen Versuchsanordnung die Außenflüssigkeit aus einer Blutaufschwemmung bestand, in der ein Bakterienwachstum äußerlich nicht festzustellen sein konnte und hierauf Rücksicht nehmende Kontrollen nicht mitgeteilt sind. Wäre das der Fall, dann wären auch die Ergebnisse der Versuche nicht weiter verwunderlich, da sie mit den vorher angeführten Hämolyserversuchen der Verfasserin übereinstimmen. Dann wären auch ihre Schlüsse über die Bildung oder Nichtbildung von Hämotoxinen der Vibrionen zu revidieren, die auch insofern nicht unterschrieben zu werden brauchten, als sie die Bildung von Hämotoxinen durch Choleravibrionen verneint, gleichwohl aber selbst angibt, daß von 22 Cholerastämmen in einer Serie mit Hammelblut 2 Stämme dasselbe auflösten, es aber nur nicht bei Verwendung von Ziegenblut taten. Diesen Angaben ist doch als Tatsächliches zu entnehmen, daß bei Choleravibrionen in flüssigen Nährböden gelegentlich Hämolysen zu beobachten ist. Dieses auffällige Verhalten von Ziegen- und Hammelblut verzeichnet auch Löwy<sup>2)</sup>: Auflösung von Hammelblut, keine Auflösung von Ziegenblut durch Cholerastämme. Demnach scheint Ziegenblut ein höchst ungeeigneter Indikator für die Vibrionenhämolysen zu sein, das sich auch sonst relativ resistent erwiesen hat [gegen Tetanus-<sup>3)</sup> und Staphylokokkenhämotoxin<sup>4)</sup> z. B.]. Der Schluß Löwys, daß die von Baerthlein<sup>5)</sup> angegebene Hammelblutkörperchenaufschwemmung sich daher zur Entscheidung der alten Streitfrage über die Vibrionenhämolysen als unbrauchbar erweise, erscheint keinesfalls zwingend. Man kann ebensogut der entgegengesetzten Ansicht sein.

### Versuche mit lebenden Kulturen.

Es blieb daher, da Filtration, Ausschleuderung und Dialyse bei Proteus-Kulturen versagten, nichts übrig, als mit lebenden Kulturen zu arbeiten und sich durch Versuch über den Einfluß der lebenden Organismen auf den Ablauf der Reaktion zu orientieren. Zu diesem Zwecke stufte ich in bekannter Weise die zu untersuchenden Kulturmengen ab, füllte aber auf das gleiche Volumen in 2 parallelen Reihen

1) Wollmann, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 35.

2) Löwy, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915.

3) Landsteiner, Handb. d. Biochem. Bd. 2.

4) Neißer u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36.

5) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914.

einmal mit Bouillon, zum anderen mit NaCl-Lösung auf. Da die Versuchsbedingungen ganz gleich waren (gleiche Kultur, gleiche Hammelblutmengen), so hätte sich ein Einfluß der lebenden Bakterien in der mit Bouillon aufgefüllten Reihe durch früher als in der NaCl-Reihe eintretende komplette Blutlösung bemerkbar machen müssen, da hier die Bedingungen für eine Vermehrung und damit verbundene Neubildung hämolysierender Substanz gegeben waren. Eine spezifisch hemmende Wirkung von NaCl war nach später anzuführenden Versuchen nicht anzunehmen, wenn auch von vornherein nicht ganz auszuschließen, da nach Untersuchungen von Eisenberg<sup>1)</sup> u. a., Lubenau<sup>2)</sup> Kochsalz unter Umständen einen hemmenden Einfluß auf die Bakterienhämolysen ausüben konnte. Gegen Lubenaus Beobachtungen ließe sich vielleicht der Einwand geltend machen, ob es sich in den angeführten Versuchen nicht um die Wirkung einer hypotonischen Flüssigkeit auf die Blutkörperchen gehandelt habe; denn Lubenau fand, daß der untersuchte sporentragende Organismus in gewöhnlicher Bouillon keine Hämolysen bewirkte, es aber tat, wenn der 1-proz. Zusatz von NaCl weggelassen wurde. Hierdurch könnte die Kulturflüssigkeit sehr wohl hypotonisch geworden und die hämolytische Wirkung nicht auf die Mikroorganismen wie auch die Hemmung nicht auf das NaCl zu beziehen sein.

Zur Prüfung des Einflusses der lebenden Bakterien wurde eine 5 Std. alte, sehr stark lösende Kultur des Stammes Schw. verwendet; im einzelnen ergaben sich folgende Verhältnisse:

Tabelle III.

Kulturmenge:		1,0	0,75	0,5	0,25	0,1	0,075	0,05	0,025 u. 0,01
Lösungszeiten bei Auffüllung auf 1 ccm mit:	Bouillon	15'	20'	23'	30'	1 Std.	1 1/2 Std.	ca. 1 1/2 Std.	nach 2 Std. noch keine kompl. Lös.
	NaCl-Lös.	15'	20'	25'	30'	1 Std. 10'	1 1/2 „	1 3/4 Std.	

Es ergibt sich demnach, daß die Lösungszeiten in beiden Reihen fast genau übereinstimmen, ein Einfluß der lebenden Keime, soweit eine Neuproduktion hämolysierender Substanz in Frage kommt, ist nicht festzustellen; denn auch nach Zeiten, die hierfür bereits ausreichen könnten, gehen die beiden Reihen noch parallel. Nicht auszuschließen wäre allerdings eine den Bakterienleibern nach der Vermutung v. Wunscheims vielleicht zukommende katalysatorische Wirkung für die Hämolysen. Die geringste in 2 Std. komplett lösende Dosis würde in der Kultur des verwendeten Stammes zwischen 0,05 und 0,025 ccm liegen, auffallend übereinstimmend mit der Angabe von Bachrach und Grafe, wonach Hammelblut von 0,03 ccm einer *Proteus*-Kultur gelöst wurde.

Daß die Anwesenheit der Bakterien in stark und schnell lösenden Kulturen nicht viel ausmachen kann, kann man auch daraus schließen, daß die zur kompletten Lösung erforderliche Zeit bei hochwirksamen Kulturen so kurz ist, daß eine Neubildung in dieser Zeit auszuschließen ist, so daß die Hämolysen wohl nur auf die zur Zeit des Blutzusatzes vorhandene Menge des Hämolysitums zu beziehen ist. Als kürzeste Lösungszeit wurden 3–5 Min. in 5 ccm-Kulturen nach Zusatz von 1 ccm 5-proz. Hammelblut beobachtet. In sehr jungen, noch nicht maximal

1) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.

2) Lubenau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.

schnell lösenden Kulturen ist allerdings mit der Möglichkeit der Neubildung zu rechnen, obwohl auch hier die noch etwas längere zur Lösung benötigte Zeit so kurz ist, daß innerhalb der Lösungszeit kaum viel neue hämolysierende Substanz gebildet werden kann, z. B. 5 ccm-Kultur des Stammes 1190 lösten 1 ccm 5-proz. Hammelblut im Alter von  $1\frac{3}{4}$  Std. in 30 Min., von 2 Std. in 20 Min., von 2 Std. in 8 Min., von  $3\frac{1}{2}$  Std. in 7 Min., von 5 und 6 Std. in 3 Min.

c) Ueber den Einfluß des Nährbodens auf die Entstehung des hämolysierenden Agens in Proteus-Kulturen.

Ein wichtiger Punkt war, den Einfluß des Nährbodens auf die blutlösenden Fähigkeiten der Proteus-Stämme zu untersuchen.

**Alkalizusatz:** Daß Alkalisieren gewöhnlicher Bouillon keinen Vorteil bot, war schon erwähnt worden. Für Staphylokokken und Vibrionen hatte sich z. B. Alkalizusatz zu Bouillon als günstig erwiesen (Neißer und Wechsberg, Meinicke).

**Fleischextraktivstoffe:** Kulturen der Stämme in 1-proz. Peptonwasser, wenn dies durch Zusatz von 0,8 Proz. NaCl Blutkörperchen an sich nicht schädigte, lösten bis auf Stamm Xs17 fast ebenso schnell Hammelblut wie die Bouillonkulturen. Fleischextraktivstoffe scheinen also für das Zustandekommen der Hämolysen nicht unbedingt nötig zu sein. Nur das Verhalten des Stammes Xs17, der an sich schon ein schwacher „Hämolysin“-bildner ist, könnte für die gegenteilige Annahme sprechen. Seine Peptonwasserkultur läßt sich direkt mit der Bouillonkultur der Reihe b in Tab. I vergleichen, da beide von demselben Material aus beimpft worden sind und die gleiche Hammelblutmischung zugesetzt wurde. In Bouillon löste er aber in  $5\frac{1}{2}$  Std. komplett, im Peptonwasser blieb nach 7 Std. bei  $37^{\circ}$  C und 12 Std. Zimmertemperatur noch ein deutlicher ungelöster Rest. Meinicke<sup>1)</sup> beobachtete in Vibrionenkulturen, daß in Bouillon wirksamere Hämolysine resp. Hämotoxine als in Peptonwasser gebildet würden.

**Bedeutung des Peptons:** Auf die Bedeutung des Peptons für die Bildung der sogenannten Hämotoxine hat Walbum<sup>2)</sup> in seinen Studien über Toxinbildung hingewiesen. Er fand, daß Vermehrung des Peptongehaltes der Bouillon bis zu 5 Proz. begleitet sei von einer Steigerung der hämolysierenden Wirkung für eine Reihe hämolysierender Bakterien. Die Deutung seiner Befunde, daß durch Pepton eine Aktivierung eines von den Bakterien gebildeten „Prolysins“ erfolge, ist von Pribram bestritten und einfacher erklärt worden. Pribram<sup>3)</sup> glaubt die Erscheinungen darauf zurückzuführen, daß der Grad der Hämolysen abhängig ist von der Verteilung des Hämotoxins zwischen Blutkörperchen und deren Suspensionsflüssigkeit, in der das Hämotoxin gelöst ist. Wird durch irgendwelche Zusätze die Löslichkeit des Hämotoxins in der Suspensionsflüssigkeit herabgesetzt, so muß sich die Wirkung auf die roten Blutkörperchen steigern. In Walbums Versuchen soll daher die vermehrte Peptonmenge die Löslichkeit des Hämotoxins herabsetzen und demnach die in den roten Blutkörperchen steigern. Diese so einleuchtende Erklärung kann aber für die Erscheinungen bei der Proteus-Hämolysen nicht in gleichem Sinne angezogen werden, und zwar aus folgenden Gründen nicht: die Kulturen der verschiedenen

1) Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905.

2) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909.

3) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1332.



Stämme zeigen, wie aus Tab. I hervorgeht, frühestens in  $3\frac{1}{2}$  Std. (St. 1190), meistens erst in  $4-4\frac{1}{2}$  Std. Lösung des Hammelblutes. 8 Stämme ( $=\frac{1}{3}$ ) bringen es in 9 Std. überhaupt nicht mehr zur völligen Lösung. Im großen und ganzen zeigen die Stämme auch hier die Reihenfolge wie in Bouillon oder 1-proz. Peptonwasser. Der verspätete Eintritt der Hämolyse, auch bei den stark lösenden Stämmen (z. B. 1190, 1669, X 19 RK), brauchte an sich noch nicht als Hemmung in der Produktion der lösenden Substanz aufgefaßt zu werden, da man das 5-proz. Peptonwasser als etwas ungeeigneten Nährboden betrachten könnte, in dem sich die Bakterien nicht so schnell wie in 1-proz. vermehren könnten, so daß die spät einsetzende Hämolyse auf die geringere Bakterienzahl und auf die damit verbundene geringere „Hämotoxin“-Produktion bezogen werden könnte. Obwohl in Kontrollröhrchen ohne Blut jedoch die Wachstumsgeschwindigkeit augenscheinlich nicht gelitten hatte, sei diese Möglichkeit immerhin zugegeben. Da aber alle Stämme an sich die Fähigkeit zur Hämolyse hatten und in 5-proz. Peptonwasser wuchsen, so hätte, eine Mehrproduktion eines „Hämotoxins“ oder die Aktivierung eines Walbumschen „Prolysins“ vorausgesetzt, eine komplette Blutlösung auch nach verzögertem Anfange bei allen Stämmen in einem auffallend engbegrenzten, wenn auch späteren, Zeitraum zusammengedrängt sein müssen. Dies war aber nicht der Fall, da auch nach recht langer Zeit etwa ein Drittel aller Stämme, und zwar die mit geringerer Fähigkeit zur Hämolyse begabten, überhaupt nicht mehr komplett lösten.

Eine Deutung dieses Befundes gewährt trotzdem die Pribramsche Erklärung, jedoch in umgekehrtem Sinne: das hämolytische Agens hat nicht eine verminderte, sondern eine gesteigerte Lösungsfähigkeit in Pepton. Das Pepton reißt einen Teil desselben an sich, so daß nur das Uebrigbleibende hämolysierend wirken kann. So erklärt sich einmal der im ganzen späte Eintritt der Hämolyse, auch bei den stark lösenden Stämmen, und die im großen und ganzen gleiche Reihenfolge der Lösung. In den Kulturen der stark lösenden Stämme bleibt auch nach Absorption eines Teiles relativ viel hämolysierende Substanz übrig, in denen der schwach lösenden Stämme wird aber so viel gebunden, daß die übrigbleibende Menge nicht mehr zur kompletten Hämolyse ausreicht.

Diese Annahme ließ sich durch weitere Versuche stützen. Walbum hat die Beobachtung gemacht, daß Zusatz von Peptonlösung oder Peptonbouillon zu Extrakten, aber auch zu filtrierten oder unfiltrierten Kulturen hämolysierender Bakterien eine bedeutende Steigerung der hämolysierenden Wirkung im Gegensatz zu NaCl-Lösung hervorruft. Diesen Beispielen entsprechend führte ich analoge Versuche mit *Proteus*-Stämmen aus, und zwar mit stark und schwach lösungsbegabten. Benutzt wurden 6–7 St. alte 5 ccm-Kulturen der betreffenden Stämme, die nach vorheriger Prüfung von Kontrollen stark wirksam waren. Je 1 ccm wurde mit den entsprechenden Zusätzen und je 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut versetzt und die Lösungszeit genau bei Aufenthalt im Brutschranke bestimmt (s. Tab. IV).

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen zeigen, daß entgegen den Befunden Walbums beim *Proteus* der Zusatz von Peptonlösung keine Steigerung der hämolytischen Wirkung, sondern im Gegenteil eine Verzögerung verursacht. Und zwar setzt manchmal schon die 1-proz. Peptonlösung, durchweg aber 5-proz. Peptonlösung die Lösungsschnelligkeit herab. Auffallend ist, daß Zusatz von NaCl-Lösung die Lösungs-

Tabelle IV.

a) Kulturen lebend (Zusatz von je 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut).

b) Kulturen erhitzt (1/2 Std. auf 65°, dann 5' auf 100°, Zusatz von je 0,25 ccm 5-proz. Hammelblut.)

Lösungszeiten:

Stamm	1 ccm Kultur					Stamm	1 ccm Kultur				
	allein	+ 4 ccm NaCl- Lösung	+ 4 ccm 1-proz. Pepton- lösung	+ 4 ccm 5-proz. Pepton- lösung	+ 4 ccm 5-proz. extrahierte Peptonlös.		allein	+ 4 ccm NaCl- Lösung	+ 4 ccm 1-proz. Pepton- lösung	+ 4 ccm 5-proz. Pepton- lösung	+ 4 ccm 5-proz. extrahierte Peptonlös.
1190	9'	10'	12'	27'	—	1190	12'	5'	4'	in 2 Std. fast kompl.	—
"	20'	16'	17'	43'	—	"	"	"	"	"	"
"	18'	16'	15'	37'	—	1190	17'	8'	7'	in 2 Std. fast kompl.	in 2 Std. fast kompl.
Beh.	19'	21'	21'	49'	39'	Beh.	in 2 Std. nicht gelöst	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
Schw.	4—5'	3'	3'	22'	18'	Schw.	17'	10'	10'	in 2 Std. schwach gel.	dgl.
X 19 RK	35'	25'	45'	1 Std. 35'	—	"	"	"	"	"	"
"	5'	5'	5'	24'	24'	X 19 RK	47'	17'	17'	in 2 Std. schwach gel.	dgl.
Xs 5	16'	13'	23'	1 Std. 18'	—	Xs 5	11'	5'	14'	in 2 Std. schwach gel.	—
"	13'	13'	13'	37'	30'	"	29'	12'	12'	in 2 Std. schwach gel.	dgl.
Xs 17	in 2 Std. stark gelöst	in 2 Std. fast kompl.	in 2 Std. Spur gelöst	in 2 Std. kaum gelöst	—	Xs 17	in 2 Stunden: keine Lösung	in 2 Stunden: keine Lösung	in 2 Stunden: keine Lösung	in 2 Stunden: keine Lösung	—

21 \*

Anm.: ↔ bedeutet, daß die unter a und b aufgeführten Versuche direkt vergleichbar sind, da gleiche Kulturen benutzt wurden.

geschwindigkeit erhöhen kann. In später anzuführenden Versuchen ist dieser Einfluß der NaCl-Lösung auch gelegentlich zu konstatieren.

Diese den Walbumschen Angaben über den Einfluß des Peptons direkt entgegengesetzten Resultate lassen zweierlei Erklärungsmöglichkeiten zu. Entweder hat die von den *Proteus*-Stämmen gebildete, Hämolyse bewirkende Substanz prinzipiell andere Eigenschaften als die der von Walbum untersuchten Bakterien, oder die Ursache liegt in dem verwendeten Pepton, dessen Zusammensetzung ja keineswegs einheitlich zu sein braucht. Wie aus Walbums Versuchen hervorgeht, wirken die von ihm dargestellten verschiedenen Fraktionen des Witte-Peptons zum Teil „aktivierend“, zum Teil „neutralisierend“ auf „Staphylo-Prolysin“. Das Ueberwiegen der einen oder anderen Anteile in einem chemisch nicht immer einheitlichen Handelsprodukte, wie es das Witte-Pepton ist, könnte daher einmal Verstärkung, ein andermal Hemmung der Hämolyse zur Folge haben. Sieht man von Walbums eigener Deutung seiner Versuche von der Aktivierung eines „Prolysin“ ab und schließt sich der Auffassung Pribrams an, daß die blutlösende Wirkung abhängig ist vom Verteilungskoeffizienten der hämolysierenden Substanz zwischen Blutkörperchen und Suspensionsmittel, so ergibt sich hier, daß Peptonzusatz ihn zuungunsten der roten Blutkörperchen verschiebt, daß also die hämolysierende Substanz einen gewissen Grad von Peptonlöslichkeit hat. Allzu hoch kann dieser aber nicht sein, da auch nach den Ergebnissen der Tab. I bei keinem Stamm in 5-proz. Peptonwasser die Lösung völlig aufgehoben wurde.

Die Bedeutung des Peptons im Nährboden für die sogenannte Hämotoxinbildung hat Walbum auch noch in einer anderen Richtung untersucht. Er fand, daß sich aus Witte-Pepton mit 96-proz. Alkohol eine Substanz extrahieren ließ, die auf Tetanus- und Staphylokokken-Hämotoxin stark, auf andere Hämotoxine dagegen schwach oder gar nicht neutralisierend wirkte. Das extrahierte Pepton, in Nährböden verarbeitet, vermochte, da es jetzt seiner paralyisierenden Eigenschaften beraubt war, die Hämotoxinbildung der Kulturen außerordentlich zu steigern. Da auch nach den Versuchen mit 5-proz. Pepton eine auf diesem alkohollöslichen Körper beruhende hemmende Wirkung angenommen werden konnte, so wurde das Pepton für 24 Std. unter Schütteln mit 96-proz. Alkohol extrahiert, getrocknet und als 5-proz. Lösung in der auf Tab. IV angegebenen Weise als Zusatz zu bestimmten lösenden Kulturmengen zugegeben. Der Vergleich mit den Versuchen 5-proz., nicht extrahierter Peptonlösung zeigt, daß die bis zur kompletten Lösung benötigten Zeiten im großen und ganzen gleich sind. Die Unterschiede sind so gering, daß sie keine weitere Bedeutung haben, eine Aufhebung des hemmenden Einflusses hätte sich in auffälligerer Weise kenntlich machen müssen. Auch bei erhitzten Kulturen war keine prinzipiell andere Wirkung des extrahierten Peptons festzustellen.

#### Einfluß des Sauerstoffs auf die Bildung des hämolysierenden Agens.

In Uebereinstimmung mit der Angabe von Glaessner und Roscules hatte die Züchtung des *Proteus* unter anaëroben Verhältnissen in Bouillon keinen Einfluß auf die Bildung des blutlösenden Agens. Ebenso erwies sich häufiges kräftiges Durchschütteln aërober Kulturen, verbunden mit Durchblasen von frischer Luft als unwesentlich im Vergleich zu einer ruhig gehaltenen aëroben Kultur. Es löste z. B. Stamm

Schw. in 5 ccm Bouillonkultur sowohl ruhig wie geschüttelt, aërob wie anaërob (Omelienskischer Apparat) 1 ccm von Anfang an zugesetztes 5-proz. Hammelblut gleichzeitig in 3 $\frac{1}{2}$  Std.

### Anhang.

#### Die Hämolyse bei Verwendung von Agarkulturen der Proteusstämme.

1) Blutagarplatten: Das Verhalten der Stämme auf Blutagarplatten (Hammelblut) entsprach den von Baerthlein gemachten Angaben. Innerhalb 48 Std. waren durch die meisten Stämme die Platten lackfarben gemacht, sie waren rot und transparent. Hofbildung war nicht vorhanden. Quantitative Unterschiede bestanden auch hier. Die Stämme Frklk., J1, Smmlg., Xs17, X19RK und X19KW hatten in dieser Zeit noch nicht die ganze Platte, sondern nur erst eine mehr oder weniger breite Zone transparent gemacht. Da nach Baerthleins Untersuchungen über die Hämolyse in festen und flüssigen Nährböden überzeugend klargelegt worden ist, daß die beiden Erscheinungen keine absolut identischen Vorgänge sein können, soll auf die Hämolyse in Plattenkulturen und ihre Deutung nicht weiter eingegangen werden.

2) Kulturabschwemmungen: Kochsalzabschwemmungen junger, auf Schrägagar gezüchteter Kulturen hämolysierten ebenfalls, und zwar je nach den Stämmen oft in recht kurzer Zeit („Waschwassergifte“). Dieser Befund entspricht den Angaben von Glaessner und Roscules. Diese Methode hat aber den Nachteil, besonders wenn die Abschwemmung etwas dicht ist, daß man die eingetretene komplette Hämolyse nicht deutlich beobachten kann und auf fortgesetzte mikroskopische Kontrollen angewiesen ist, wodurch eine unvermeidliche Abkühlung der Kulturen veranlaßt wird. Aus diesen Versuchen kann man schließen, daß das hämolysierende Agens an der Bakterienzelle haftet und sich in wässerigen Lösungen leichter verteilt.

#### d) Ueber die Eigenschaften des hämolysierenden Agens der Proteuskultur.

Die angeführten Versuche haben gezeigt, daß die untersuchten 23 Proteus-Stämme, die spezifischen X-Stämme wie die unspezifischen Stämme, das Vermögen besitzen, in flüssigen Kulturen verschiedene Blutarten aufzulösen, wenn auch nicht alle in gleichstarkem Maße. Es war nun des weiteren die Frage, ob diese Eigenschaft einem echten, von den Bakterien direkt abgesonderten Hämotoxin zukommt, oder ob die Blutlösung auf andere Weise verursacht wird. Es war früher schon auseinandergesetzt, daß die Wirksamkeit eines Filtrates unmöglich ein Kriterium dafür sein kann, daß das die Hämolyse bewirkende Agens ein Toxin sein muß, sondern daß am besten der Beweis der Antigennatur die Sache klarstellen kann. Ehe auf diese Verhältnisse eingegangen werden soll, sollen noch einige Versuche und Erörterungen über die Eigenschaften des hämolysierenden Agens angeführt werden.

1) Einfluß erhöhter Temperaturen auf das hämolysierende Agens: Für die Beurteilung der bei der Hämolyse wirkenden Vorgänge erscheint es von Bedeutung, wie sich die hämolytisch wirkenden Kulturen zur Erhitzung auf verschiedene Temperaturen verhalten. Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen spricht im allgemeinen gegen Toxinatur, wenn auch vielleicht nicht unbedingt, wie man den zusammen-

fassenden Darstellungen von Landsteiner<sup>1)</sup>, Pick<sup>2)</sup> und den von Pribram<sup>3)</sup> gesammelten Angaben entnehmen kann. Im allgemeinen aber scheinen die sogenannten Bakterienhämotoxine thermolabile Körper zu sein. Sehr auffallend sind die Befunde, daß auf mittlere Temperaturen erwärmte und dadurch abgeschwächte oder unwirksam gewordene Hämotoxine durch Erhitzen auf 100° C wieder „reaktiviert“ werden können, Beobachtungen, die von Dreyer und Jex Blake beim sogenannten Megatheriolysin, von Arrhenius, Landsteiner und Mitarbeitern am Staphylolysin gemacht worden sind. Walbum<sup>4)</sup> ferner fand, daß ein durch 2 Min. gekochtes, fast unwirksam gewordenes Staphylolysin durch Zusatz von 5-proz. Peptonlösung in demselben Grade wieder reaktiviert werden konnte wie unerhitztes.

In der Untersuchung der *Proteus*-Stämme folgte ich vor allem den Angaben von Landsteiner und v. Rauchenbichler<sup>5)</sup>, die die Erscheinungen beim Staphylokokkenhämotoxin eingehend verfolgt haben. Sie fanden, daß Erwärmung für 1/2 Std. auf 65° C die hämolysierende Wirkung sehr stark herabsetzte, daß diese aber durch Erhitzung für 5 Min. auf 100° C wieder stark anstieg.

In parallelen Reihen gleichen Alters (6—7 Std.), gleichen Nährbodens usw. wurden sämtliche 23 Stämme (5 ccm-Kulturen) auf ihre Lösungskraft gegen 5-proz. Hammelblut (1 ccm) geprüft: erstens lebend, zur Kontrolle, zweitens nach 2 Min. Erhitzen auf 100° C, drittens nach 1/2-stündigem Erwärmen auf 65° C. Eine Auswahl der Stämme wurde viertens der doppelten Erwärmung auf 65 und 100° C unterworfen.

Erwärmung der Kulturen auf 100° C für 2 Min.: Die kurze Erwärmung von 2 Min. auf 100° C, die nach Walbums Angaben das Staphylokokkenhämotoxin fast unwirksam machte, hatte auch bereits bei der Mehrzahl der *Proteus*-Stämme eine schwere Schädigung der hämolysierenden Wirkung zur Folge. Nur 1 X-Stamm und 2 „wilde“ Stämme lösten das Hammelblut trotzdem innerhalb 2 Std. bei 37° C komplett, und zwar waren das die in der unerhitzten Kontrollkultur auch am schnellsten lösenden Stämme Xs 9, 1190, Schw.; fast komplett lösten 4 X- und ein unspezifischer Stamm, nach weiteren 12 Std. Eisschrankaufenthalt hatte sich die Lösung etwas verstärkt. 11 Stämme insgesamt zeigten auch nach 12 Std. Eisschrank keine Lösung, während von ihnen in lebender Kultur nur 5 nicht ganz komplette Lösung in 2 Std. verursachten. Die kurze Hitzewirkung — das Thermometer stieg in den Röhrchen in 2 Min. noch nicht ganz bis zur Siedetemperatur — hatte also das hämolysierende Agens stark beeinflußt, der Grad der Zerstörung schien sich nach der Menge des ursprünglich vorhanden gewesenen zu richten, da die stark lösenden Stämme noch abgeschwächt wirksam waren. Zu bemerken ist aber, daß einmal gelegentlich sogar eine deutliche Steigerung der Lösungsschnelligkeit (Stamm 1190) gegenüber der lebenden Kultur beobachtet wurde.

Erwärmung der Kulturen auf 65 und 55° C für 1/2 Std.: Kulturen, die 1/2 Std. auf 65° C gehalten wurden, lösten bis auf 1 Stamm (Schw.) in 2 Std. überhaupt nicht mehr, aber auch dieser brachte es in

1) Landsteiner, Handb. d. Biochem. Bd. 2, 2. S. 453.

2) Pick, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 1. S. 790.

3) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2.

4) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909.

5) Landsteiner u. v. Rauchenbichler, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 1. 1909.

dieser Zeit nicht mehr zur kompletten Lösung. Auch hier handelte es sich um einen lebend sehr stark wirksamen Stamm.

Erwärmung auf  $55^{\circ}\text{C}$  für  $\frac{1}{2}$  Std. hatte ebenfalls nach einer Reihe Stichproben bei stark lösenden Stämmen fast gänzliche Aufhebung der hämolysierenden Wirkung zur Folge.

Erwärmung der Kulturen auf  $65^{\circ}\text{C}$  für  $\frac{1}{2}$  Std. mit folgender Erhitzung auf  $100^{\circ}\text{C}$  für 5 Min.: Diese doppelte Erhitzung ergab keineswegs übereinstimmende Resultate, wenn man sich nicht auf einen Stamm allein beschränkt, sondern denselben zu verschiedenen Zeiten oder überhaupt verschiedene Stämme prüft. Ähnlich wie in den Versuchen von Landsteiner u. a. trat meist die Hämolysie wieder auf, wenn auch nicht in dem Grade wie in unerhitzten Kulturen. Andererseits blieb sie aber auch ganz aus (Stamm Bch.) oder die erhitzten Kulturen zeigten sogar stärkere oder mindestens gleiche Wirkung wie die unbehandelten Kulturen (Xs5). Gleich blieb in allen Fällen bei den erhitzten Kulturen nur die Wirkung der 5-proz. Peptonlösung, auch der mit Alkohol extrahierten, die stets die komplette Hämolysie in 2 Std. verhinderte. Verdünnungen mit NaCl-Lösung oder 1-proz. Peptonwasser hatte fast immer eine deutliche Beschleunigung der Reaktion zur Folge. Ob die Ursache dieser etwas verworrenen Verhältnisse in qualitativen Verschiedenheiten der von den einzelnen Stämmen gebildeten hämolysierenden Substanz beruhen, wage ich nicht zu entscheiden. Wahrscheinlich werden ähnliche Verhältnisse, wie aus verschiedenen Angaben aus der Literatur hervorgeht, auch bei anderen Mikroorganismen zu beobachten sein, wenn man sich nicht auf die Prüfung eines Stammes beschränkt.

Als Deutung dieser Befunde kann man wohl hier die Erklärung Landsteiners und v. Rauchenbichlers für die ähnlichen Vorgänge bei Staphylokokkenhämotoxinen anführen, daß die Inaktivierung bei niederen Temperaturen nicht durch Destruktion des Lysins, sondern durch Bildung einer unwirksamen Verbindung des Lysins mit anderen in den Kulturen enthaltenen Stoffen erfolgt. Durch kurzes Erwärmen auf  $100^{\circ}\text{C}$  läßt sich diese Verbindung zerlegen, so daß das hämolysierende Agens wieder wirksam wird.

2) Das Verhalten hämolysierender Kulturen zu Säure und Alkali: Zusatz von äquivalenten Säure- oder Alkalimengen zu stark wirksamen Bouillonkulturen ergab, daß Alkali im Gegensatz zu Säure eine auffallende hemmende Wirkung hatte. Wenn z. B. zu 7 Std. alten 5 ccm-Kulturen zugesetzt wurden:

0,6 ccm $\frac{1}{5}$ n $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,	so löste Kultur von <i>Proteus</i> 1190 in 8 Min.
0,6 " ccm $\frac{1}{5}$ n NaOH	" " " " " Schw. " 3 "
" " " " " "	" " " " " 1190 " 40 "
" " " " " "	" " " " " Schw. " $1\frac{1}{2}$ Std. noch nicht komplett

Die gleich alten Kontrollkulturen von *Proteus* 1190 lösten 1 ccm 5-proz. Hammelblut in 5 Min., von *Proteus* Schw. in 3 Min. komplett. Zusatz von je 0,3 ccm Säure oder NaOH hemmte nicht wesentlich, die gleichen Säuren- oder Alkalimengen lösten allein ebenfalls nicht das Blut. Hierzu ist zu bemerken, daß wahrscheinlich nicht einmal die gesamte zugesetzte Alkalimenge wirksam war, da die Kultur von *Proteus* 1190 gegen Phenolphthalein sauer reagierte. Zum Farbumschlag waren 0,15 ccm  $\frac{1}{5}$  n NaOH nötig, die man also von 0,6 ccm abziehen mußte. Allerdings ist hier der Einwand berechtigt, ob die Titration mit

Phenolphthalein als Indikator ein richtiges Resultat ergeben kann (wie sie auch von Walbum<sup>1)</sup> bei Titration von Staphylokokkenkulturen gebraucht worden ist), da man in den gewachsenen Kulturen mit der Anwesenheit von CO<sub>2</sub> rechnen muß, wobei die Titration mit Phenolphthalein nicht am Platze ist. Andere Indikatoren, wie z. B. Methylorange, Rosolsäure, Cochenilletinktur waren in Bouillon nicht zu gebrauchen. Hemmung durch KOH gibt z. B. auch Eisenberg<sup>2)</sup> für Tetanus- und Vibrionenhämolyse an. Andererseits ist aber auch das Vorhandensein von Säuren nicht ohne Bedeutung für Toxine im allgemeinen, wenn auch die Wirkung von Säuren verschieden sein kann<sup>3)</sup>.

3) Das Verhalten der Proteuskulturen zu Cholesterin und Lecithin: Entsprechend den Beobachtungen Noguchis, daß dem Cholesterin eine starke „antihämotoxische“ Wirkung zukommen kann, versuchte ich auch bei den Proteus-Stämmen den Einfluß dieser Substanz auf den Ablauf der Hämolyse zu prüfen. Pribrams, Landsteiners u. a. zusammenfassenden Darstellungen ist zu entnehmen, daß die Wirkung des Cholesterins den verschiedenen bakteriellen Hämotoxinen gegenüber keineswegs einheitlich ist. Einem Versuchsbeispiele Pribrams<sup>4)</sup> folgend, gab ich zu je 5 ccm-Kulturen von Stamm Xs5 und Schw. (5 Std. alt, komplette Hämolyse von 1 ccm 5-proz. Hammelblut in 5 Min.) je 0,6 ccm in Aether gelöstes konzentriertes Cholesterin zu. Das Cholesterin fällt hierbei, wie zu erwarten, aus und läßt sich trotz Schüttelns, auch während des Zusetzens nicht recht verteilen, wodurch eigentlich der Wert des Versuches ganz in Frage gestellt wird. Nach Belassen der Mischung für  $\frac{1}{2}$  Std. im Brutschrank unter gelegentlichem Durchschütteln wurde je 1 ccm 5-proz. Hammelblut zugesetzt. Die Hämolyse wurde gehemmt (komplett in 35 Min.) aber nicht total aufgehoben, wie man hätte erwarten können. Aetherzusatz in gleicher Menge allein ohne Cholesterin hatte keinen hemmenden Einfluß.

Lezithin in dichter Suspension den Kulturen zugesetzt, bewirkte keine Spur einer Hemmung der Hämolyse.

Besonderen Wert glaubte ich auf Versuche mit Lezithinmembranen in der Art Pascuccis<sup>5)</sup> legen zu müssen, da diese nach Meinung des Autors zeigen, in welcher Weise Hämotoxine auf rote Blutkörperchen wirken können. Pascucci fand, daß von Tetanolysin Lezithinmembranen angegriffen wurden, Cholesterinmembranen aber nicht; er schloß daraus, daß jenes Hämotoxin Lipoidlösungsfähigkeit besaß, die dementsprechend als Ursache der Hämolyse angesprochen werden konnte. Den Angaben Pascuccis entsprechend, überspannte ich 5—7 mm weite, ca. 5 cm lange Glasrohrstücke mit Seide, tauchte sie in durch heißen Alkohol gelöstes Lezithin, sobald es zähflüssig war, trocknete diese Membranen ca. 24 Std. bei 37° C im Brutschrank und dichtete darauf mit Wachs ab. In der weiteren Ausführung der Versuche wich ich von Pascuccis Angaben ab, da sich mir das Füllen dieser Röhrchen mit einem Indikator (Hämoglobin, Kochenille) nicht recht zweckmäßig erwies. Ich befestigte vielmehr die fertigen Röhrchen mit Plastilin derart auf dem Rande eines weiten Reagenzglases, daß sie frei in dieses hineinhingen, füllte sie darauf ca. 1 cm hoch mit Bouillon und beließ sie so über 2 Std. im Brutschrank, um sie auf ihre

1) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909.

2) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69.

3) Pick, Handb. v. Kolle-Wassermann, Bd. 1. S. 741.

4) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 1. Aufl. Ergbd. 1. S. 297.

5) Pascucci, Hofmeisters Beitr. Bd. 6. 1905.

Dichtigkeit zu prüfen. Röhrchen, die innerhalb dieser Zeit durchtropften, wurden ausgeschaltet. Darauf impfte ich die Bouillon der Röhrchen mit den betreffenden Stämmen, von dem Gedanken ausgehend, daß diese Kleinkulturen durch die geprüften Membranen hindurchtropfen würden, wenn sie lezithinlösende Eigenschaften entfalteten. Die Resultate waren aber keineswegs befriedigend. Eine Lösung der Membranen ergab sich nämlich bei stark wie schwach blutlösenden Stämmen oder es kam zu ganz paradoxen Resultaten, indem schlecht hämolysierende Stämme wie Xs17, Frklk. usw. sehr schnell die Membranen lösten, stark hämolysierende Stämme dagegen wie Stamm 1190, Schw., Xs5 manchmal gar nicht lösten. Etwas Prinzipielles lag hier nicht zugrunde, wie ich aus sehr vielen Kontrollversuchen schließen konnte. Ja sogar Bact. coli- oder Sarcine-Stämme, die gegenüber Blut keine Spur hämolysierender Wirkung entfalteten, vermochten geprüfte Membranen „aufzulösen“. Diese Beobachtungen wiesen darauf hin, daß der Fehler an der Methodik lag; einmal konnte die von mir verwendete Lezithinprobe (Mercksches Ovolezithin) schuld sein, zum anderen war es mir aber, was ich besonders betonen möchte, technisch nicht möglich, die Seidenmembranen aller Röhrchen gleichmäßig mit Lezithin zu überziehen, eigentlich ein Postulat für vergleichende Untersuchungen. Unter diesen Umständen muß ich daher die Frage offen lassen, ob den Proteus-Stämmen ein besonderes Lezithinlösungsvermögen zukommt.

In gleicher Weise mit geschmolzenem Cholesterin angefertigte Membranen wurden vom Proteus nicht gelöst.

#### e) Ueber die Art des hämolysierenden Agens der Proteuskulturen.

Wie schon erwähnt, kann die in Bakterienkulturen zu beobachtende Hämolyse spezifischer und unspezifischer Art sein: spezifisch, wenn das hämolysierende Agens ein direktes Sekretionsprodukt der Bakterienzelle ist, wobei dahingestellt sein mag, ob dieses Sekretionsprodukt allein nur gerade Hämolyse bewirken kann oder ob es auch noch in anderer Weise sich äußernde Eigenschaften besitzt, unspezifisch, indem die betreffenden Bakterien für das Zustandekommen der Hämolyse gleichsam nur die Rolle eines Vermittlers spielen. Abgesehen von einer vielleicht denkbaren katalysatorischen Beeinflussung des Prozesses durch die Bakterienleiber, wird die Hämolyse nicht direkt, sondern sekundär durch die Lebenstätigkeit der Bakterien veranlaßt, indem dies Folge der Wirkung gewisser Substanzen ist, die bei der Umsetzung des gleichzeitig den Bakterien als Nährmittel und den roten Blutkörperchen als Suspensionsmittel dienenden Mediums entstehen. Es ist klar, daß diese Eigenschaften, wie Pribram sagt, nichts mit der Hämotoxinbildung zu tun haben, „da ja erfahrungsgemäß die verschiedensten Einflüsse zur Hämolyse führen“. Zur Beurteilung der Frage, ob eine durch Bakterien hervorgerufene Hämolyse spezifischer oder unspezifischer Art ist, ist es vor allem nötig, diese Möglichkeiten ins Auge zu fassen, ehe man die Wirkung auf spezifische Hämotoxine zurückführt.

Die für eine unspezifische Hämolyse in Betracht kommenden Möglichkeiten.

Nach Pribrams Ausführungen kommen für die unspezifische Hämolyse außer der direkten Einwirkung der Bakterien auf die roten Blut-



körperchen vor allem osmotische und Reaktionsänderungen des Nährsubstrates in Betracht.

1) „Direkte“ Einwirkung der Bakterien: Daß man sich unter der „direkten“ Einwirkung nichts recht Bestimmtes vorstellen kann, ist bereits erörtert worden. Wichtiger sind daher die anderen Punkte.

2) Osmotische Aenderungen der Kulturflüssigkeit: Will man die Hämolyse auf osmotische Aenderungen des Suspensionsmittels der roten Blutkörperchen zurückführen, so käme als hämolytisches Agens nur eine Hypotonie der betreffenden Flüssigkeit in Frage. Notwendig ist weiter, daß man die Oberfläche der Blutkörperchen nur als einheitliche semipermeable Membran im Sinne der Wasserdurchlässigkeit auffaßt und von ihrem Bau aus verschiedenen Substanzen absieht. Osmotische Aenderungen des den Bakterien dienenden flüssigen Nährsubstrates müssen im Verlaufe ihrer Lebenstätigkeit in demselben eintreten, da eine Spaltung der hochmolekularen organischen Körper zu zum Teil relativ einfachen chemischen Substanzen erfolgt. Im allgemeinen werden aber diese Vorgänge eine Hypertonie der Lösung zur Folge haben, wenn auch mit einem Verluste an Substanz durch Entweichen flüchtiger Körper zu rechnen ist, wodurch allein eine Verminderung des Salzgehaltes verursacht werden könnte ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ). Eine Verminderung des Salzgehaltes aus diesem Grunde kann aber nicht so hoch einzuschätzen sein, daß er genügte, Hypotonie der Lösung herbeizuführen, zum mindesten nicht im vorliegenden Falle, wo sich schon sehr junge Kulturen des *Proteus* als hämolytisch wirksam erwiesen. Außerdem zeigt der Versuch der Blutlösung in einem 0,8 Proz. NaCl enthaltenden Peptonwasser, daß auch trotz starkem Entweichen irgendwelcher flüchtiger Verbindungen aus dem organischen Nährmaterial immer noch genügend NaCl vorhanden sein muß, um dadurch schon die Kulturflüssigkeit auf Isotonie zu halten. Gegen einen Abbau von NaCl durch lebende Bakterien spricht sich auch v. Wunscheim<sup>1)</sup> auf Grund in anderer Richtung ausgeführter Versuche aus. Außerdem sind gerade ältere Kulturen flüssiger Nährböden, in denen der Verlust an ursprünglichem Materiale relativ groß sein müßte, hämolytisch unwirksam. Derartige ältere Kulturen sind tatsächlich hypertonisch für Blutkörperchen geworden, wovon man sich durch das Mikroskop überzeugen kann, da in ihnen die Blutkörperchen die bekannte Stechapfelform annehmen — die Wirkung hypertotonischer Lösungen. Bestimmungen des elektrischen Leitvermögens wie der Gefrierpunktserniedrigung ergaben auch in alten Bakterienkulturen nach Untersuchungen von Uschinski<sup>2)</sup> und Oker-Blom<sup>3)</sup> Sinken des Gefrierpunktes und Steigerung der Leitfähigkeit als Ausdruck der durch die Stoffwechselvorgänge stattgefundenen Salzzunahme. Uschinski führt speziell für den *Proteus* (8-tägige Peptonbouillonkulturen) einige Zahlen an und glaubt die Erscheinungen vor allem auf die Bildung von Ammonsalzen zurückzuführen. Gegen die Annahme von rein osmotischen Einflüssen spricht auch die Beobachtung, daß die Erwärmung auf 55 oder 65° C die hämolytische Fähigkeit fast ganz aufhebt. Durch diese einfache physikalische Maßnahme kann aber eine Veränderung des Salzgehaltes nicht hervorgerufen werden.

1) v. Wunscheim, Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1905.

2) Uschinski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33. 1903. S. 88.

3) Oker-Blom, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 382.

Die Hämolyse in flüssigen Bakterienkulturen auf osmotische Vorgänge zurückzuführen, ist wohl nicht nur in diesem Falle abzulehnen, zumal eine solche Auffassung die Blutkörperchenoberfläche nur als einheitliche semipermeable Membran betrachten kann, nicht aber auf ihren in Wirklichkeit vorhandenen komplexen Bau aus Eiweißkörpern und Lipoidsubstanzen Rücksicht nimmt. Die Wirkung chemischer Agentien, die Hämolyse hervorrufen, läßt sich im allgemeinen mit der Vorstellung vereinen, daß gewisse Substanzen permeieren können, und daß die Permeabilität der Blutkörperchenoberfläche auf einem selektiven Lösungsvermögen der sie zusammensetzenden Substanzen — in erster Linie der Lipoidsubstanzen — beruht.

Da aus der mikroskopischen Betrachtung des Blutlösungsvorganges hervorgeht, daß in den Bouillonkulturen ein in Lösung befindliches hämolysierendes Agens vorhanden sein muß, so könnte man, ehe man an ein direktes Sekretionsprodukt der Bakterienzelle denkt, die Wirkung als Folge in der Kultur gebildeter chemischer Körper auffassen, im allgemeinen als Folge von

3) Reaktionsänderungen durch Bildung von Säure oder Alkali.

Alkalientwicklung: Auf Alkalientwicklung ist z. B. die hämolytische Eigenschaft von *Bact. pyocyaneum*-Kulturen zurückgeführt worden (Jordan<sup>1)</sup>). Nach Lubenaus<sup>2)</sup> Beobachtungen ruft  $\text{NH}_3$  schon in 2-proz. Lösung komplette, in  $\frac{1}{2}$ - und 0,1-proz. Lösung teilweise Hämolyse hervor. Ammonsalze sind zudem von allen Neutralsalzen befähigt, mehr oder weniger leicht in die Blutkörperchen einzudringen, vermutlich infolge der durch Dissoziation der Salze vorhandenen freien Ammoniakbase<sup>3)</sup>. Gegen die von Jordan aufgestellte Behauptung, daß beim *Pyocyaneus* die Alkalientwicklung allein zur Erklärung der Hämolyse ausreiche, spricht, daß in Versuchen von Lubenau durch Neutralisation eines stark hämolytisch wirkenden „*Pyocyaneus*-Giftes“ die Hämolyse wohl abgeschwächt, aber nicht völlig aufgehoben wurde. Weiterhin führt Pribram Versuche von Weingeroff<sup>4)</sup> an, in denen durch künstliche Verdauung mit Magen- und Pankreassaft das „Hämolysin“ zerstört wurde. In den Versuchen mit Magensaft, die wohl unter sauren Verhältnissen stattgefunden haben werden, könnte man allerdings an eine etwaige Neutralisation des Alkalis denken, bei der Verdauung mit Pankreassaft käme aber sogar noch eine Vermehrung des Alkalis in Betracht, da bei der Spaltung von Eiweiß durch Trypsin sogar  $\text{NH}_3$  entsteht<sup>5)</sup>. Wie Kruse<sup>6)</sup> sagt, „bleibt aber doch ein Rest von Wirkung übrig, der nicht anders als durch das Vorhandensein eines echten Hämolysins erklärt werden kann“. Wenn auch der *Proteus* ein starker Alkalibildner ist, wie wir nach den Versuchen von Rubner<sup>7)</sup> und Berghaus<sup>8)</sup> wissen, und diese im allgemeinen auf  $\text{NH}_3$  zurückgeführt wird, so zeigt doch einmal die Beobachtung, daß alte Kulturen überhaupt kein nennenswertes Lösungsvermögen haben, zum

1) Zit. nach Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1356.

2) Lubenau, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 30. 1901.

3) Höber, Handb. d. Biochem. Bd. 2, 2. S. 30.

4) Weingeroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 29. 1901.

5) Kruse, Allgem. Mikrobiol. S. 484.

6) Ders., Allgem. Mikrobiol. S. 1003.

7) Rubner, Arch. f. Hyg. Bd. 48. 1904 u. Bd. 57. 1906.

8) Berghaus, Arch. f. Hyg. Bd. 64. 1908.

anderen die Feststellung, daß junge *Proteus*-Kulturen zur Zeit der stärksten hämolytischen Wirksamkeit gegen Phenolphthalein nicht mehr alkalisch reagieren, daß die Alkaliproduktion kaum für die Hämolyse in Anspruch zu nehmen ist. Diese letzte Beobachtung steht in Uebereinstimmung mit Angaben von Walbum<sup>1)</sup>, der in vergleichbaren Kurven darstellt, wie die maximale Wirksamkeit des Staphylokokkenhämotoxins parallel geht mit einer in den ersten Tagen auftretenden Säurebildung in der Kultur (gegen Phenolphthalein) und wie mit Beginn der Alkalität — seiner Auffassung nach — eine Destruktion dieses Toxins erfolgt, als Ausdruck dafür, daß Alkalien zerstörend auf Toxine im allgemeinen wirken.

**Säurebildung:** Da nach den früher mitgeteilten Versuchen Alkalizusatz auch beim *Proteus* die Hämolyse hemmte, Säurezusatz dagegen nicht schadete, so könnte man auf den Gedanken kommen, daß die Hämolyse überhaupt Folge einer Säurewirkung wäre. Als Säure käme natürlich nur eine organische Säure in Betracht. Die Möglichkeit, daß in Bouillon Säure gebildet wird, ist vorhanden. Wenn auch leicht vergärbare Kohlehydrate fehlen, so können doch durch Zersetzung der Eiweißkörper Säuren entstehen. Von besonderer Bedeutung ist in dieser Hinsicht eine Arbeit von Burkhardt<sup>2)</sup>, der das hämolysierende Agens von *Bact. putidum*-Kulturen als eine ungesättigte Fettsäure ansprechen zu müssen glaubt (Dioxymethylthiolerucasäure). Auch die Toxinnatur des sogenannten Staphylokokkenhämotoxins wird von ihm bezweifelt, da hämolytisch wirksame Dialysate keine Eiweißreaktion gaben. Bewahrheiten sich die Burkhardtschen Untersuchungen, so sind sie allerdings geeignet, wie er selbst sagt, die stillschweigend akzeptierte Lehre von der Eiweißnatur der Bakteriengifte, im besonderen der Bakterienhämotoxine zu erschüttern. Die Beobachtung, daß Alkalizusatz verschiedentlich, auch im vorliegenden Falle, die Bakterienhämolyse hemmte oder verhinderte, würde dann nichts weiter als eine Neutralisation der Säure bedeuten. Der Beweis jedoch, daß die Hämolyse auf diese Fettsäure zurückzuführen ist, scheint, wie ich glaube, doch nicht restlos erbracht. Daß sich Fettsäuren aus derartigen Kulturen isolieren lassen, ist an sich nicht unwahrscheinlich, nur müßte man mehr über die Quantitätsverhältnisse Bescheid wissen, ob die in bestimmten, noch komplett lösenden Quanten der Kulturen vorhandene Säure auch wirklich der Menge nach imstande sein könnte, das zugesetzte Blut zu lösen. Ein Zweifel an der Richtigkeit der Burkhardtschen Annahme — nicht an der Richtigkeit seiner Befunde — ist mir durch folgende Ueberlegungen gekommen. Wie bereits angegeben, beobachtete ich, daß die hämolytisch wirksamen *Proteus*-Kulturen gegen Phenolphthalein sauer reagierten, übereinstimmend mit Walbums Befunden bei Staphylokokkenkulturen. Ersetzt man nun die in einem bestimmten Kulturquantum durch Titration bestimmte absolute Menge der Säure unter Einhaltung gleicher quantitativer Verhältnisse durch die gleiche Menge einer anorganischen Säure in nicht beimpftem, gleichem Kulturmaterial, so reicht diese nicht zur Hämolyse der zugesetzten gleichen Blutmenge aus. Hierbei kommt noch in Betracht, daß die Phenolphthaleintitration die Säuremenge zu hoch angeben könnte. Selbst wenn die äquivalente Menge der anorganischen Säure Hämolyse verursachen würde, so

1) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1909.

2) Burkhardt, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 63. 1910.

brauchte es die gleiche Menge der organischen Säure, um die es sich in den Kulturen handeln kann, nicht zu tun, da die hämolysierende Wirkung der Säuren in hohem Grade abhängig ist von ihrer Stärke, d. h. von den abdissoziierten H-Ionen<sup>1)</sup>. Da die organischen Säuren im Gegensatz zu den anorganischen verhältnismäßig wenig dissoziiert sind, so sind ihre hämolytischen Konzentrationen viel größer als die der anorganischen Säuren, wie man einer von Höber<sup>1)</sup> angeführten Tabelle von Neubauer und Fühner entnehmen kann. Allerdings ist der Grad der Dissoziation nicht das allein hämolytisch Wirksame, sondern die organischen Säuren besitzen noch die ihnen speziell zukommende Eigenschaft, daß mit der Länge der C-Kette ihre Lipoidlöslichkeit und damit ihre hämolysierende Fähigkeit wächst, so daß diese größer ist als dem Dissoziationsgrad im Verhältnis zu dem der organischen Säuren entspricht. Ungesättigte Fettsäuren, zu denen die Burkhardttsche Erucasäure der *Bact. putidum*-Kulturen gehören würde, sollen allerdings noch wirksamer als gesättigte Fettsäuren sein, die in der erwähnten Tabelle allein aufgeführt sind. Immerhin müßte man dann durch einfache Neutralisation mit Alkali die hämolytische Wirkung prompt aufheben können. Wie aber aus dem früher mitgeteilten Versuche hervorgeht, stört ein geringer Ueberschuß an Alkali nicht wesentlich. Das gleiche kann man den Walbumschen Kurven entnehmen, wo auch noch maximale hämolytische Wirksamkeit bei bereits eingetretener Alkalität kurze Zeit bestehen bleibt. Gegen eine reine Säurewirkung sprechen auch die Erhitzungsversuche, besonders die „Reaktivierung“ der hämolytischen Wirkung, die sich durch Säure allein wohl nicht erklären lassen. Außerdem tritt bei der Hämolyse durch Säuren, auch organischer, Braunfärbung des Blutes auf, die in *Proteus*-Kulturen nie zu beobachten war.

Schwefelwasserstoff, den man als schwache Säure auffassen kann und der in allen Kulturen sehr früh und reichlich gebildet wird, kommt wegen seiner blutfällenden Eigenschaften auch nicht für die Hämolyse in Betracht.

4) Bildung von Alkoholen und Estern: Eine weitere Möglichkeit, die, soviel ich sehe, bis jetzt für die Entstehung der Hämolyse auf unspezifischem Wege noch nicht herangezogen worden ist, könnte darin bestehen, daß für die Hämolyse auch die Wirkung von Alkohol oder Estern verantwortlich zu machen sei. Alkohole sind sehr viel stärkere Hämolytika als Säuren und ihre Stärke wächst mit der Länge der C-Kette, parallel mit ihrer Lipoidlöslichkeit, die ja bei der Hämolyse die größte Rolle spielt. Noch stärkere hämolysierende Wirkung entfalten Ester<sup>2)</sup>. Die Bedingungen zur Alkoholbildung und bei gleichzeitiger Säureentwicklung zur Esterbildung könnten in Bouillonkulturen gegeben sein, insofern, als durch Spaltung des Peptons Aminosäuren und aus diesen Alkohole entstünden. Daß diese Möglichkeiten nicht ganz von der Hand zu weisen sind, lehren die Untersuchungen von Nawiasky<sup>3)</sup>, der gerade mit *Proteus* arbeitete und die Bildung von Alkoholen aus Aminosäuren beobachtete. Sehr wahrscheinlich erscheint aber auch diese Annahme für eine unspezifische Hämolyse nicht, da nach Nawiaskys Versuchen in älteren *Proteus*-Kulturen die er-

1) Vergl. hierzu Höber, Handb. d. Biochem. Bd. 2, 2. S. 34.

2) Siehe dazu Tab. v. Fühner u. Neubauer bei Höber, Handb. d. Biochem. Bd. 2, 2. S. 33.

3) Nawiasky, Arch. f. Hyg. Bd. 66. 1908.

wähnten Substanzen vorhanden waren, ältere *Proteus*-Kulturen aber gerade nicht mehr hämolysierten. Auch jene Reaktivierungsversuche passen nicht zu dieser Annahme, während die Inaktivierung bei 55° oder 65° C als eine Vertreibung derartiger flüchtiger Substanzen hätte aufgefaßt werden können, wie dies Lode<sup>1)</sup> bei einer anderen Gelegenheit vermutet hat.

#### Die für eine spezifische Hämolysen in Betracht kommenden Möglichkeiten.

Die angeführten Erörterungen führen sozusagen per exclusionem dazu, die *Proteus*-Hämolysen als spezifische Erscheinung aufzufassen, d. h. als Wirkung aktiv von der Bakterienzelle abgesonderter Stoffe. Die Blutlösung als Wirkung von Substanzen aufzufassen, die durch Zerfall abgestorbener Bakterienleiber frei werden, kann wegen des jugendlichen Alters der wirksamen Kulturen nicht in Frage kommen. Führt man die Hämolysen auf die Wirkung aktiv von der Bakterienzelle abgesonderter Stoffe zurück, so fragt es sich noch, ob sie auf einem Hämotoxin *sui generis* beruht, daß allein nur Hämolysen verursacht, oder ob hierfür nicht auch ein Sekretionsprodukt mit bereits anderweitig bekannten Eigenschaften verantwortlich zu machen ist.

#### Eiweiß- oder gelatinelösende Fermente.

Als erster hat wohl Bajardi<sup>2)</sup> auf einen Zusammenhang zwischen Blutlösung und Gelatineverflüssigung von Staphylokokkenkulturen hingewiesen. Nachdem auch Meinicke<sup>3)</sup> gelegentlich seiner Untersuchungen von Vibrionen hierauf wieder aufmerksam gemacht hatte, erklärte jedoch schon bald darauf Pribram<sup>4)</sup>, daß eine genaue Uebereinstimmung — bei Vibrionen — zwischen Gelatineverflüssigung und Hämolysen sich nicht auffinden lasse. Van Loghem<sup>5)</sup> betonte später wieder, daß bei Vibrionen „hämodigestives“ Vermögen resp. Unvermögen mit der Gelatineverflüssigung parallel gehe. Meinicke läßt es übrigens selbst dahingestellt, ob die von ihm beobachtete Blutlösung in einer Mischung von NaCl und Blut, die infolge ihres Fehlens von Nährstoffen die Bakterien zum Angriffe auf das Blutkörpercheneiweiß zwänge, auf das peptonisierende Ferment zurückzuführen sei. Absolut eindeutig sind die Versuche auch nicht zu beurteilen. Daß ferner auch das die Gelatine lösende Ferment nicht unbedingt identisch zu sein braucht mit einem Eiweiß lösenden — das doch hier in erster Linie in Frage käme —, ist schon erwähnt worden. Andererseits braucht aber auch eine weitgehende Eiweißspaltung nicht unbedingt mit der Bildung eines Eiweißkörper verflüssigenden Fermentes verknüpft zu sein (z. B. *Bact. coli*), so daß trotz fehlender Gelatineverflüssigung mit einem Angriff auf die Eiweißsubstanzen der Blutkörperchen zu rechnen sein kann. Fehlende oder vorhandene Gelatineverflüssigung kann also a priori schon nichts über eine möglicherweise zu erwartende Blutlösung aussagen. Soweit sich trotzdem Parallelen ergeben, wird die Ursache auf die den einzelnen Bakterienarten oder -stämmen der gleichen Art in mehr oder weniger reichem Umfange zukommenden Lebensäußerungen zu beziehen sein.

1) Lode, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1902/03.

2) Bajardi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 31. 1902.

3) Meinicke, Deutsch. med. Wochenschr. 1904. Nr. 23.

4) Pribram, Handb. v. Kolle-Wassermann, 1. Aufl. Ergbd. 1. S. 324.

5) Van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. S. 410.

Zur Prüfung der *Proteus*-Stämme wurde gleichzeitig mit dem Hammelblutversuch a der Tab. I die Fähigkeit der Stämme, Gelatine zu lösen, untersucht. Um eine Vergleichsbasis zu schaffen, wurde dieselbe Bouillon der einzelnen Stämme, die zum Beimpfen der Blutbouillon a gedient hatte, benutzt und mit ihr Gelatineröhrchen (12 Proz. Gelatine, 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. NaCl), um auch weiterhin möglichst gleiche Verhältnisse zu schaffen, in der Weise beimpft, daß die Platinöse jedesmal gerade nur unter die Oberfläche der erstarrten Gelatine versenkt wurde. Es kamen also im Hämolyse- wie im Gelatinelösungsversuch die Abkömmlinge ein- und derselben Kulturqualität zur Beobachtung. Das Ergebnis war folgendes: Den Stämmen, die am spätesten das Hammelblut lösten, entsprachen auch die, die entweder nicht oder nur sehr wenig Gelatine verflüssigten. Xs17 hatte das Verflüssigungsvermögen schon seit längerer Zeit völlig eingebüßt. Durch die Stämme Xs18, Maus, Frklk., J1, Smmlg. erwies sich nach 36 und 48 Std. die Oberfläche des Gelatineröhrchens nur etwas erweicht und zähflüssig, während alle übrigen Stämme zu dieser Zeit schon ca.  $\frac{1}{2}$  cm der Gelatinesäule verflüssigt hatten. Nach 72 Std. erreichte die Verflüssigung bei diesen eine Schicht von mindestens  $\frac{3}{4}$  bis zu 2 cm, von den zuerst genannten brachten es nur die Stämme Maus und Smmlg. auf knapp  $\frac{1}{2}$  cm. Auch hier beim *Proteus* könnte die weitgehende Uebereinstimmung zwischen Blutlösung und Gelatineverflüssigung zur Annahme eines wesensgleichen Vorganges verführen, wenn nicht gerade die Beobachtung an dem Stamme Xs17 zeigte, daß Blutlösung bei fehlender Gelatineverflüssigung vorhanden sein kann, daß sie also zum mindesten nicht auf das gelatinelösende Ferment zu beziehen ist. Ebenso auch nicht auf ein serumlösendes Ferment, da Serumlösung bei mehreren Stämmen (3) nicht zu beobachten war. Diese Versuche können allein trotzdem nicht ausschließen, daß irgendein eiweißspaltendes Ferment bei der Hämolyse im Spiele ist, immerhin ist dies nicht sehr wahrscheinlich, wenn man die vergleichenden Untersuchungen Baerthleins<sup>1)</sup> über die Blutlösung von Mikroorganismen in flüssigen Nährböden heranzieht. Aus diesen geht hervor, daß nur in flüssigen Nährböden eine eigentliche Hämolyse zu beobachten ist, da sich nur hier spektroskopisch Oxyhämoglobin nachweisen läßt, während in festen Kulturen sich noch andere Vorgänge aus unbekannten Gründen mit der Hämolyse kombinieren, die nicht allein zum Austritt des Hämoglobins aus den Blutkörperchen, sondern weiter zur Zerstörung des Hämoglobins oder des Hämoglobins und des Blutkörperchenstromas führen. Diese letzte Erscheinung, die sogenannte Hofbildung in Blutagarplatten, tritt beim *Proteus* nicht auf, seine Kulturen verursachen nur ein Transparentwerden des Nährbodens, wobei wohl das Hämoglobin abgebaut wird, aber die Stromata erhalten bleiben. Da also in flüssigen Kulturen überhaupt kein Abbau des Hämoglobins oder der Stromata zu beobachten ist und vom *Proteus* sogar in festen Nährböden die Stromata nicht angegriffen werden, so kann man schon aus diesen Gründen die Wirkung eiweißspaltender Fermente als Ursache der Hämolyse ablehnen. Den Austritt des Hämoglobins könnte man sich dann nur durch das Weglösen der Lipoidbestandteile der Blutkörperchen erklären.

1) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 201.

### Lipoidlösung.

Daß der Vorgang der Hämolyse auf einer derartigen Lipoidlösung beruhe, ist von verschiedenen Seiten angenommen worden<sup>1)</sup>. Die von Pascucci<sup>2)</sup> ausgeführten Untersuchungen sprechen dafür, daß zum mindesten bei Tetanushämotoxin Beziehungen zwischen den Lipoiden und dem „Hämotoxin“ vorliegen, wobei dahingestellt sein mag, ob sie auf fermentativen oder einfachen Lösungsvorgängen beruhen. Meine Versuche mit *Proteus* erlaubten, wie erwähnt, keinen Entscheid. Die Inaktivierbarkeit lösender *Proteus*-Kulturen bei relativ niedrigen Temperaturen könnte ja für eine Fermentwirkung sprechen, ob aber auch die Reaktivierungsversuche, ist wohl fraglich.

### Handelt es sich bei der *Proteus*-Hämolyse um Hämotoxine von Antigencharakter?

Es bleibt somit kaum etwas anderes übrig, als die hämolysierende Wirkung der *Proteus*-Kulturen auf eine ganz bestimmte Substanz eigenen Charakters zurückzuführen und es fehlt nur noch der Nachweis, ob diese Substanz als Antigen wirken kann, was für die Toxinnatur sprechen würde.

Zu diesem Zwecke wählte ich unter den am stärksten blutlösenden Stämmen der spezifischen und unspezifischen Gruppe je einen X-Stamm (Xs5) und einen unspezifischen Stamm (Schw.) aus.

Zu diesem Zwecke benutzte ich 2 Kaninchen A und B. Da nicht mit keimfreien Filtraten immunisiert werden konnte, mußte ich lebende Kulturen benutzen. Dies hatte aber den Vorteil, daß die hierbei eintretende agglutinierende Fähigkeit der Sera einen Indikator für einen Immunisierungsprozeß abgab. Denn man konnte annehmen, daß, ebenso wie die Bakterien als Antigen wirkten, das gleichzeitig injizierte hämolysierende Agens eine Reaktion hervorrufen mußte, wenn es als Antigen zu wirken imstande sei. Die Tiere wurden subkutan 4mal gespritzt mit den entsprechenden, meist 5 Std. alten Bouillonkulturen der betreffenden Stämme, sobald deren Kontrollen maximale hämolysierende Wirkung zeigten, und zwar in Abständen von 4—5 Tagen mit je 1, 1½, 2 und 5 ccm Kultur. Die Tiere vertrugen die ersten Einspritzungen ohne schwerere Schädigungen, später trat Abszeßbildung auf. Tier A wurde mit Stamm Xs5, Tier B mit Stamm Schw. gespritzt.

Vor der Behandlung wurden die Sera beider Tiere auf Normalagglutination beiden Stämmen gegenüber sowie auf etwaige spontan die Hämolyse hemmende Eigenschaften geprüft, da auch normale Kaninchenserum, wie Meinicke<sup>3)</sup> angibt, die Hämolyse beeinflussen können.

Die Unbeständigkeit der hämolysierenden Wirkung der lebenden *Proteus*-Kulturen gestattete nicht, erst in einem 2 Std. währenden Vorversuche die kleinste komplett lösende Dosis zu bestimmen, zu der das auf Antikörperwirkung zu prüfende Serum hätte zugesetzt werden müssen, da sich in dieser Zeit die Grenze der Lösungsfähigkeit schon wieder hätte verschoben haben können. Aus diesem Grunde setzte ich die zu prüfenden abgestuften Serummengen zu je 1 ccm Bouillonkultur und notierte die zur kompletten Hämolyse nötige Zeit. Durch Vergleich mit Kontrollkulturen ohne Serumzusatz konnte man die hemmende Wirkung beobachten.

1) Pflüger, Handb. v. Kolle Wassermann, 2. Aufl. Bd. 2, 2. S. 1331.

2) Pascucci, Hofmeisters Beitr. Bd. 6. 1905.

3) Meinicke, a. a. O., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50.

Infolge einer anfänglich anders geplanten Versuchsanordnung hatte ich bei der Prüfung der Normalsera die betreffenden Sera zu je 5 ccm Kulturen hinzugegeben und 5-proz. Hammelblut verwendet, während bei dem Immunisierungsversuch nur 1 ccm Kultur und 5-proz. gewaschenes Kaninchenblut verwendet wurde. Letzteres benutzte ich, um bei artgleichem Blute eine event. notwendige Inaktivierung des Immunisationsserums zu umgehen. Trotzdem läßt der Vorversuch ein Urteil über die Wirkung der Normalsera zu, da es einmal nicht auf quantitative Werte, sondern nur auf qualitative Unterschiede ankommt, andererseits Kontrollversuche zeigten, daß Kaninchen- wie Hammelblut gleich schnell von den betreffenden Stämmen gelöst wurden und die Normalsera in den verwendeten Mengen das Hammelblut nicht spontan lösten.

Vorversuch: Prüfung der Normalsera A und B. Von Serum A und Serum B werden je 0,25 und 0,1 ccm für 20 Min. mit je 5 ccm Kultur (5 Std. alt) von Stamm Xs5 und Stamm Schw. bei 37° C belassen, darauf Zusatz von je 1 ccm 5-proz. Hammelblut; komplette Lösung erfolgt in:

	Kultur	Schw.	Xs5		Kultur	Schw.	Xs5
Serum A:	0,25	7 Min.	18 Min.		0,25	20 Min.	27 Min.
	0,1	7 "	8 "	Serum B:	0,1	15 "	20 "
	—	6 "	6 " (Kontr.)		—	6 "	6 " (Kontr.)

Agglutination: beide Sera agglutinieren selbst in der Verdünnung 1:10 keinen Stamm.

Dieser Versuch zeigt, daß der Zusatz der Normalsera nicht ohne Einfluß auf den Ablauf der Hämolyse ist, und zwar hemmt Serum B an sich stärker als Serum A, außerdem ist die Kultur des Stammes Xs5 leichter durch Normalserum zu beeinflussen als die Kultur des Stammes Schw.

Der Hauptversuch wurde 6 Tage nach der letzten Einspritzung von 5 ccm lebender Kultur angestellt und hatte folgendes Ergebnis:

Hauptversuch: Abgestufte Mengen der Sera werden durch NaCl auf das Volum von 1 ccm aufgefüllt und mit je 1 ccm (5 Std. alter) Kultur der Stämme für 20 Min. bei 37° C belassen. Zusatz von je 0,2 ccm 5-proz., 3mal gewaschenem Kaninchenblut (Mischblut beider Tiere):

Tabelle V.

Serummenge		0,5	0,25	0,2	0,15	0,1	0,075	0,05	0,025	0,02	0,015	0,1	—
A	Kultur von Stamm Schw. { Lös. kompl. in	1 <sup>h</sup>	45'	35'	35'	30'	25'	25'	20'	10'	10'	10'	10'
	Kultur von Stamm Xs5 { dgl.	1 <sup>h</sup> 55'	1 <sup>h</sup> 25'	1 <sup>h</sup> 10'	1 <sup>h</sup> 10'	1 <sup>h</sup>	55'	55'	45'	40'	35'	30'	17'
B	Kultur von Stamm Schw. { "	1 <sup>h</sup> 10'	1 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	55'	45'	35'	30'	25'	25'	20'	10'	10'
	Kultur von Stamm Xs5 { "	1 <sup>h</sup> 40'	1 <sup>h</sup> 25'	1 <sup>h</sup> 10'	1 <sup>h</sup> 10'	1 <sup>h</sup>	55'	55'	50'	50'	50'	40'	17'

Agglutination: Serum A agglutiniert Xs5: 1:5000 deutlich

Schw.: 1:5000 "

Serum B agglutiniert Xs5: 1:2000 schwach

Schw.: 1:5000 deutlich

Das eingespritzte Material hätte also, gemessen an den Agglutinationswerten, wohl imstande sein können, eine Antihämotoxinwirkung zu entfalten. Beide Sera verhindern aber, wie man dem Hauptversuche entnehmen kann, die Hämolyse in 2 Std. nicht, auch in relativ hohen



Konzentrationen. Zweifellos haben sie eine hemmende Wirkung. Die Kultur Schw. wird weniger stark beeinflußt als die von Stamm Xs5, außerdem hat Serum B stärker hemmende Eigenschaften als Serum A. Es sind das aber die gleichen Erscheinungen, die auch den Normalseren zukamen. Eine deutliche, ausgeprägte antihämotoxische Wirkung ist nicht vorhanden, selbst in den hohen Serumkonzentrationen der ersten Röhren erfolgt noch innerhalb 2 Std. die Hämolyse. Die Hemmung der Hämolyse ist daher wohl nur dem Zusatz von Serum als solchem zuzuschreiben, sie ist aber nicht als spezifische Antihämotoxinwirkung aufzufassen.

Bei dieser Sachlage ist also die Frage, ob es sich bei der Proteus-Hämolyse um eine Hämotoxinwirkung handelt, nicht zu bejahen. Damit wurde auch die Vermutung hinfällig, daß sich die X-Stämme von anderen Proteus-Stämmen durch eine spezifische Hämotoxin-Antihämotoxinreaktion unterscheiden lassen. Weitere Tierversuche in dieser Richtung anzustellen, verbot sich aus Mangel an Tieren.

Nachzutragen ist noch, daß normale Sera von Tieren und von Menschen in ihrer Wirkung auf verschiedene Proteus-Stämme geprüft wurden. Auffallend war hierbei, daß Menschensera (aktiv und inaktiviert) sehr stark hemmend wirkten, Meerschweinchen- und Kaninchensera verhältnismäßig wenig. Die Wirkung von Pferdeserum war verschieden, einigen Stämmen gegenüber stark, anderen gegenüber wenig ausgeprägt. Auf die Wiedergabe von Einzelheiten glaube ich verzichten zu können. Es erscheint aber doch recht fraglich, ob es sich hier um eine Antihämotoxinreaktion handelt.

#### Zusammenfassung.

Zwischen den X-Stämmen und den Nicht-Fleckfieberstämmen der Proteus-Gruppe bestehen keine konstanten kulturellen Unterschiede. In Übereinstimmung mit den Angaben anderer Untersucher zeigte die Prüfung auf Kohlehydratvergärung, Indolbildung, daß wohl die X-Stämme untereinander sich kulturell gleich verhalten, während bei den unspezifischen Stämmen auffallende Unterschiede bestehen. In dieser Beziehung konnte das Parallelgehen von Indolbildung und Saccharose- und Maltosegärung im allgemeinen bestätigt werden.

Sämtliche Stämme hatten das Vermögen, in flüssigen Kulturen in relativ kurzer Zeit die verschiedensten Blutarten aufzulösen. Unterschiede bestanden, manche Stämme lösten leichter als andere, prinzipielle Differenzen zwischen X- und Nichtfleckfieberstämmen bestanden aber nicht.

Abschwemmungen fester Agarkulturen besaßen ebenfalls hämolysierende Wirkung.

Die maximale hämolysierende Wirkung war in Bouillonkulturen bereits in 5–6 Std. vorhanden; in 24-stünd. Kulturen war die hämolysische Wirkung unsicher, meist nicht mehr vorhanden; es scheint also bei 37° C entweder durch die Wirkung der Temperatur oder durch die weitergehende Lebenstätigkeit der Bakterien eine Zerstörung des hämolysierenden Agens zu erfolgen. Maximal lösende junge Kulturen, 24 Std. auf Eis aufgehoben, besaßen noch hämolysierende Kraft, wenn auch nicht im früheren Umfange.

Sauerstoffabschluß hatte keinen Einfluß auf die Bildung des hämolysierenden Agens.

Kulturen in 1-proz. Peptonwasser unterschieden sich nicht wesentlich von Bouillonkulturen hinsichtlich der Hämolyse, 5-proz. Peptonwasser hemmte dagegen stark, durch Alkoholextraktion des Peptons ließ sich die hemmende Wirkung nicht aufheben.

Das hämolysierende Agens war in flüssigen Kulturen zweifellos in Lösung vorhanden, frei von den Bakterien, wenn es sich auch durch Filtration nicht oder nur in geringer Menge isolieren ließ. Versuche, die hämolysierende Substanz durch Zentrifugieren oder durch Kultur in Dialysierhülsen frei von den Bakterien zu erhalten, führten zu keinem Ergebnis.

Durch Erhitzen auf 100° C für 2 Min. wurde die hämolysierende Wirkung von Bouillonkulturen meistens aufgehoben, wenn auch nicht immer. Erhitzen auf 55° und 65° C für 1/2 Std. schwächte die Hämolyse sehr stark ab, so daß in 2 Std. keine komplette Hämolyse mehr erfolgte. Bei Erwärmung auf 65° C für 1/2 Std. mit nachfolgender Erhitzung auf 100° C für 5 Min. trat die Hämolyse meistens wieder auf, sie konnte allerdings ganz fehlen, konnte aber noch stärker als früher sein; im allgemeinen war sie im Vergleich mit der lebenden Kultur abgeschwächt.

Alkalizusatz zu lösenden Bouillonkulturen hemmte die Hämolyse im Gegensatz zu äquivalenten Säuremengen, Zusatz von Cholesterin hemmte gleichfalls im Gegensatz zu Lezithin.

Als Ursache der Hämolyse können „direkte Einwirkung“ der Bakterien sowie osmotische Einflüsse, Bildung von Alkali oder Säure nicht in Betracht kommen.

Die Wirkung eiweißspaltender Fermente ist abzulehnen, ob lezithinspaltende Fermente für die Hämolyse verantwortlich zu machen sind, konnte nicht entschieden werden.

Ein Beweis, daß es sich bei der Hämolyse der *Proteus*-Stämme um die Wirkung von Hämotoxinen handelt, war nicht zu erbringen, da sich Antihämotoxine im Tierversuche nicht erzeugen ließen. Demgemäß war es auf diesem Wege nicht möglich, *X*-Stämme und andere *Proteus*-Stämme durch eine spezifische Toxin-Antitoxinreaktion zu unterscheiden.

---

*Nachdruck verboten.*

## Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose.

Aus dem Hygienischen Institut in Kiel (Direktor: Prof. Dr. K iss k a l t).]

Von Prof. Dr. med. Ludwig Bitter.

Mit 1 Kurve im Text.

Es ist zweifellos von mehr als einseitigem Interesse, Aufklärung darüber zu erhalten, was die bakteriologische und serologische Fest-

stellung typhöser und typhusverdächtiger Erkrankungen zu leisten imstande ist. Vor allem wird es dem Arzte wünschenswert erscheinen, ein Bild über die Leistungsfähigkeit bakteriologischer Untersuchungsstellen in dieser Hinsicht zu erhalten; auf der anderen Seite dürfte es für den Hygieniker und Sozialpolitiker wichtig sein, Einblick in die diesbezüglichen Verhältnisse zu erhalten, um auf diese Weise z. B. über den Nutzen der überall bestehenden Untersuchungsämter unterrichtet zu werden.

K. E. F. Schmitz (1) hat von dieser Leistungsfähigkeit anlässlich einer 1915 in Jena vorgekommenen Typhusmassenerkrankung von 537 Personen ein außerordentlich trübes Bild entworfen. 443 von diesen hat Schmitz 1567mal untersucht; nur bei 50,11 Proz. gelang auf irgendeine gebräuchliche Weise der Nachweis einer bestehenden Typhuserkrankung. Nur bei 16,82 Proz. konnten Typhusbakterien nachgewiesen werden. Bei den innerhalb der ersten 5 Krankheitswochen bakteriologisch bzw. serologisch untersuchten 353 Patienten war das Ergebnis ein besseres. Bei 61,47 Proz. von ihnen konnte durch die Untersuchung die sichere Diagnose „Unterleibstyphus“ gestellt werden, bei 21,03 Proz. gelang der Bakteriennachweis. Berechnet man die von Schmitz mitgeteilten Zahlen auf alle 537 Kranken der Jenaer Epidemie, so kann man sagen, daß es dem Bakteriologen nur bei 41,3 Proz. gelang, die ärztliche Diagnose durch seine Hilfsmittel zu sichern, und daß nur bei 13,0 Proz. die Erreger gezüchtet wurden. Beide Resultate sind zweifellos gleich unbefriedigend. Schmitz hat beachtens- und beherzigenswerte Vorschläge zur Erzielung besserer Resultate in seiner Arbeit mitgeteilt, vor allem auch auf die Wichtigkeit der Einsendung von Blut der verdächtigen Kranken an die Untersuchungsstellen hingewiesen. Er betont, daß die Untersuchung größerer Blutmengen (10 ccm) erheblich größere Aussicht auf ein Gelingen des Bakteriennachweises habe, und schlägt vor, diese Blutmenge zur weiteren Erhöhung der Züchtungsaussichten in defibriniertem Zustande einzusenden. Den letzten Vorschlag Schmitz' möchte ich auf Grund der Erfahrungen von Reiner Müller, H. Gräf (2) und mir nicht ohne weiteres unterstützen. Müller und Gräf haben vergleichende Untersuchungen über Züchtungsergebnisse aus geronnenem und durch Hirudin an der Gerinnung verhindertem Blute von sicheren Typhuskranken angestellt und gefunden, daß bei gleicher Verarbeitungsart das Hirudinblut keine wesentlich höhere Ausbeute an Typhusbakterien gab als der Blutkuchen des geronnenen. Meine Erfahrungen bewegen sich in derselben Richtung. Man erhält aus der Gallekultur eines zerquetschten Blutkuchens bei genügend langer Bebrütungszeit (48 Std.) in der 1. und 2. Krankheitswoche so außerordentlich gute Resultate (80—100 Proz.), daß die Beimengung des teuren Hirudins, oder die mit technischen Schwierigkeiten verbundene Defibrinierung durch Schütteln als nicht dringend erforderlich wegfallen kann. Auch bezüglich der Menge des Blutes bin ich geneigt, anzunehmen, daß 3—5 ccm annähernd dasselbe leisten wie 10. Dringend betonen möchte ich aber, daß es sehr wünschenswert ist, daß die einsendenden Aerzte die am besten durch Venenpunktion zu entnehmenden Blutproben vor dem Hineingelangen von Haut- und Luftkeimen, die bei der Züchtung der Typhusbakterien äußerst störend wirken können, sorgfältig schützen.

Schmitz ist geneigt, seinen aus der Jenaer Epidemie gewonnenen Erfahrungen der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose

Allgemeingültigkeit zuzusprechen, eine Ansicht, der Kalthoff (3) in einer auf meine Veranlassung verfaßten Arbeit, wie ich glaube, mit Recht, energisch widersprochen hat. Kalthoff hat festgestellt, daß bei den in der Medizinischen Klinik in Kiel vom 1. Jan. 1910 bis Ende Nov. 1916 stationär behandelten sicheren Typhusfällen in den verschiedensten Abschnitten der Erkrankung nur 4,5 Proz. bakteriologisch und serologisch nicht geklärt werden konnten. Er hat weiterhin betont, daß unsere Blutzüchtungsergebnisse und die Resultate der Stuhl- und Urinzüchtung bei der von Schmitz geübten Berechnungsart die aus der Jenaer Typhusepidemie gewonnenen überholen, daß dagegen unsere als positiv erklärten Agglutinationsbefunde hinter denen von Schmitz zurückbleiben. Kalthoff hat nicht unterlassen, hervorzuheben, daß die Verhältnisse für die bakteriologische und serologische Diagnosestellung bei der fast unmittelbaren Nachbarschaft von Klinik und Untersuchungsamt in Kiel und bei dem erfreulichen Zusammenarbeiten beider Institute besonders günstig lägen. Er hat aber auch nicht verschwiegen, daß nach meinen Angaben die Untersuchungsergebnisse des Bakteriologen für die ganze Provinz Schleswig-Holstein hinsichtlich des Unterleibstyphus nicht so entmutigend sein könnten, wie die von Schmitz in Jena gewonnenen. Kalthoff hat auch einige vorsichtige Erklärungsversuche für die unserer Meinung nach nicht allgemeingültigen Resultate von Schmitz gemacht (schwere Züchtbarkeit des Jenaer Stammes usw.), die jedoch von Schmitz in einer diesbezüglichen Entgegnung (4), in der auch weiterhin auf der Allgemeingültigkeit seiner Resultate bestanden wird, abgelehnt werden. Schmitz glaubt vielmehr, die von Kalthoff mitgeteilten Ergebnisse im Sinne seiner Feststellungen deuten zu sollen; eine Ansicht, deren Berechtigung zu prüfen jedem Leser der Ausführungen von Schmitz und Kalthoff überlassen bleiben muß. Wie weit die Ansichten von Schmitz und uns in der Bewertung von Zahlen auseinandergehen, möge nur nachfolgendes Beispiel zeigen: Schmitz sagt auf S. 3 seiner 2. Arbeit: „Die von K. errechneten Zahlen des Typhusnachweises sind nun um ein wenig größer als die meinigen.“ Auf die Menge seiner Stuhluntersuchungen während der ersten 5 Krankheitswochen berechnet, erhält Schmitz von 426 37 positive = 8,68 Proz., Kalthoff von 564 dagegen 123 = 21,8 Proz. Auf die Typhuskranken bezogen, gestalten sich die Zahlen folgendermaßen: Schmitz isoliert in den ersten 5 Wochen aus 247 Stühlen von Kranken 35mal die Erreger = 14,17 Proz., wir nach Kalthoff aus 495 solchen Stühlen 113mal = 22,8 Proz. Wenn Schmitz in der 1. Krankheitswoche von 45 Kranken Blutzüchtungsversuche macht und ihm diese Züchtung bei 17 gelingt, = 37,77 Proz., so machten wir in derselben Zeit 65 und isolierten bei 41 Kranken die Erreger = 63 Proz. Im übrigen bin ich durchaus der Ansicht von Schmitz, daß seine wie unsere Ergebnisse hinter dem, was in anderen, diesbezüglichen Veröffentlichungen über die Brauchbarkeit einzelner bakteriologischer Methoden gefunden ist, mehr oder weniger erheblich zurückbleiben.

Der Hauptzweck der in Frage stehenden Untersuchungen und Erwägungen dürfte für den Praktiker zweifellos in der Beantwortung der Frage liegen: Wieviel im Bereiche eines Untersuchungsamtes mit räumlich nicht zu beschränktem Wirkungskreis in einer bestimmten Zeit vorkommenden Typhuserkrankungen werden daselbst bakteriologisch bzw.

serologisch einwandfrei geklärt? Die Beschränkung auf eine mittlere Stadt z. B. wäre imstande, ein falsches Bild zu entwerfen, das seine Entstehung der verhältnismäßig geringen Zeit, die die Proben unterwegs sind, dem kleineren Aerktekreise, aus dem die Einsendungen stammen, der dauernden persönlichen Fühlungnahme, die ein größerer oder kleinerer Teil der Aerzte mit dem Untersuchungsamte hat, usw. verdankt.

Ich teile in folgendem unsere Untersuchungsergebnisse für Schleswig-Holstein mit Ausschluß des Stadtkreises Altona, der ein eigenes Untersuchungsamt besitzt, mit und bemerke dazu, daß nicht nur der Typhus, sondern auch der in der Provinz keineswegs seltene Paratyphus B (typhöse Form mit Ausschluß der sogenannten Fleischvergiftungen) in die Berechnung einbezogen ist. Es soll mitgeteilt werden, wie viele in der Zeit von 1914—1919 von den polizeilich gemeldeten Typhus- und Paratyphus B-Erkrankungen im Untersuchungsamt in Kiel bakteriologisch bzw. serologisch geklärt werden konnten. Um einem vielleicht zu erhebenden Einwande zu begegnen, möge hier hervorgehoben werden, daß es kaum anzunehmen ist, daß die Meldung der Typhusfälle in Schleswig-Holstein weniger sorgfältig vorgenommen wird, als in anderen Landesteilen. Schon die Ermittlungspflicht der Kreisärzte beim Typhus und der meist langwierige Verlauf dieser Erkrankung, ferner sein meistens nicht vereinzelt bleibendes Auftreten lassen es wohl unwahrscheinlich erscheinen, daß eine größere Anzahl von Fällen polizeilich nicht gemeldet wird, oder daß in erster Linie der mit der Benachrichtigung des Kreisarztes verbundene positive Befund des Untersuchungsamtes den Grund für die Meldung seitens des Arztes abgibt. Bei einer Krankheit wie Diphtherie z. B., für die manche der angeführten Tatsachen nicht zutreffen, entzieht sich sicher eine ganze Reihe von Fällen der polizeilichen Meldung.

Was den Paratyphus anbetrifft, so bin ich allerdings der Ansicht, daß seine Erreger, in erster Linie die des Paratyphus B, im allgemeinen leichter nachzuweisen sind als die des Unterleibstyphus. Trotzdem habe ich die Zahlen für den Nachweis von Paratyphus B-Erkrankungen miteinbezogen. Die Gründe dafür sind folgende: Unter den gemeldeten typhösen Erkrankungen befand sich, wie das Ergebnis des Untersuchungsamtes zeigt, eine nicht unerhebliche, in den letzten Jahren dauernd steigende Anzahl von Paratyphus B-Erkrankungen. Wenn man die Menge der gemeldeten Paratyphus B-Fälle mit der der bakteriologisch und serologisch festgestellten vergleicht, so ergibt sich die Tatsache, daß die Zahl der letzteren die der ersteren nicht unerheblich überholt. Das ist darauf zurückzuführen, daß der behandelnde Arzt bei echten Paratyphus B-Fällen (typhöse Form), die nach meiner Meinung in ihrer Aetiologie von derjenigen der in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle unter gastrointestinalen Erscheinungen verlaufenden sogenannten Fleischvergiftungen zu trennen sind, meistens nicht imstande ist, klinisch die richtige Diagnose zu stellen. Erst der bakteriologische bzw. serologische Befund ermöglicht sehr oft diese Diagnosestellung. Unter den in der Provinz gemeldeten durch die Tätigkeit des Untersuchungsamtes nicht festgestellten typhösen Erkrankungen wird sich daher zweifellos noch eine Anzahl befinden, die keine Typhus-, sondern Paratyphus B-Fälle sind.

Die Beteiligung des Paratyphus B-Bakteriums bei der Erregung typhöser Erkrankungen in Schleswig-Holstein geht aus folgenden Zusammenstellungen hervor. Einzelheiten finden sich in meiner Arbeit: Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein (7).

Es waren unter 100 in Schleswig-Holstein gemeldeten Typhus- und Paratyphusfällen wenigstens Paratyphus B-Fälle:

1914	8,0
1915	9,3
1916	12,5
1917	15,9 (9,1 ohne Flensburg)
1918	6,7 (10,1 ohne Epidemien in Kiel und Schusterkrug)
1919	21,0

Zur Erläuterung dieser Zahlen diene folgende Angabe:

Polizeilich gemeldete Typhus- und Paratyphusfälle:	Bakteriol. bzw. serol. festgestellte Paratyphus B-Fälle:
1914 344	27
1915 338	33
1916 375	47
1917 888	139 (81 ohne Flensburg)
1918 919 (612 ohne Epidemien in Kiel und Schusterkrug)	62
1919 466	98

Bezieht man die diesbezüglichen Feststellungen nur auf die von mir bakteriologisch geklärten Fälle, so kommt man zu folgenden Zahlen:

durch Zahl der Züchtung festgestellten Typhuserkrankungen:	Paratyphuserkrankungen:
1914 142	21
1915 150	23
1916 134	34
1917 265	95 (47 ohne Flensburg)
1918 364 (154 ohne Kiel und Schusterkrug)	41
1919 195	73

Also waren von 100 durch Züchtung festgestellten typhösen Erkrankungen in Schleswig-Holstein Paratyphus B-Erkrankungen:

1914	14,8
1915	15,3
1916	25,3
1917	36,0 (17,8 ohne Flensburg)
1918	15,5 (26,6 ohne Kiel und Schusterkrug)
1919	37,4

Zieht man aber auch die von mir nachgewiesenen Paratyphus B-Fälle ab, so bleibt das Gesamtbild über die Leistung unseres Untersuchungsamtes doch im wesentlichen unverändert.

#### Schleswig-Holstein außer Altona.

Jahr	Gemeldete	Durch Züchtung der Erreger bakteriolog. festgestellte		nur serol. festgestellte	bakteriol. bzw. serol. festgest. Typhus- und Paratyphus B-Fälle	
			Proz.			Proz.
1914	321	163	50,7	53	216	67,3
1915	312	173	55,4	76	249	79,9
1916	320	168	52,5	46	214	66,8
1917	843	360	41,5	154	514	61,0
1918	854	305	35,8	145	450	52,7
1919	383	268	70,0	83	351	91,6

Vorstehende Tabelle zeigt, über wieviele der in den Jahren 1914 bis 1919 gemeldeten typhösen Erkrankungen wir uns bakteriologisch und serologisch unterrichten konnten. Die Prozentzahlen sind sowohl für die Züchtungsergebnisse als auch für die „verschiedenen Verfahren“ (Schmitz) — also Züchtungen und Agglutinationen zusammen — immer höher als die von Schmitz in der Jenaer Epidemie gewonnenen. Betont werden muß, daß Agglutinationsbefunde nur dann als positiv gedeutet wurden, wenn das Patientenserum in einer Verdünnung von mindestens 1:100 zwei Typhusbakterienstämme oder einen Paratyphus B-Bakterienstamm innerhalb 2 Std. bei Brutofemperatur für das unbewaffnete Auge sichtbar agglutinierte. Bei Personen, die gegen Typhus schutzgeimpft waren, also z. B. bei allen Soldaten, wurde seit 1915 nur eine positive Serumdiagnose gestellt, wenn in der gleichen Zeit wenigstens der Titer 1:500 erreicht wurde. Juni 1919 ist die 1. Beurteilung wieder eingeführt. Inwieweit die von mir ermittelten Zahlen nur um ein wenig größer sind als die von Schmitz, überlasse ich nach dem oben Gesagten jedem einzelnen Beurteiler; zum Teil scheinen sie mir die seinigen erheblich zu übersteigen, Immerhin ist es auffällig, daß 1917 und 1918 eine deutliche Verschlechterung unserer Untersuchungsergebnisse festzustellen ist. Meine Zahl für 1918 ist, wenn man die mit Hilfe aller Verfahren ermittelten Fälle betrachtet, fast gleich mit der von Schmitz in Jena gewonnenen; meine Züchtungsergebnisse sind allerdings verhältnismäßig auch recht schlecht, aber immerhin mit plus 14 Proz. meiner Meinung nach doch noch deutlich höher als die seinigen. 1919 dagegen deckt sich die Prozentzahl meiner bakteriologisch bzw. serologisch festgestellten Fälle mit der von Klinger (5) für den Südwesten des Reiches diesbezüglich ermittelten (1906 = 91 Proz., 1907 = 92 Proz.). Ueber die Menge der durch Züchtung festgestellten Erkrankungen erfahren wir aus der Arbeit Klingers leider nichts. Zweifellos verdankt aber Klinger seine Erfolge zum großen Teile den systematisch angestellten Ermittlungen bei der „Typhusbekämpfung“ in dem genannten Gebiete und sie sind mit den meinigen und denen von Schmitz nicht ohne weiteres zu vergleichen.

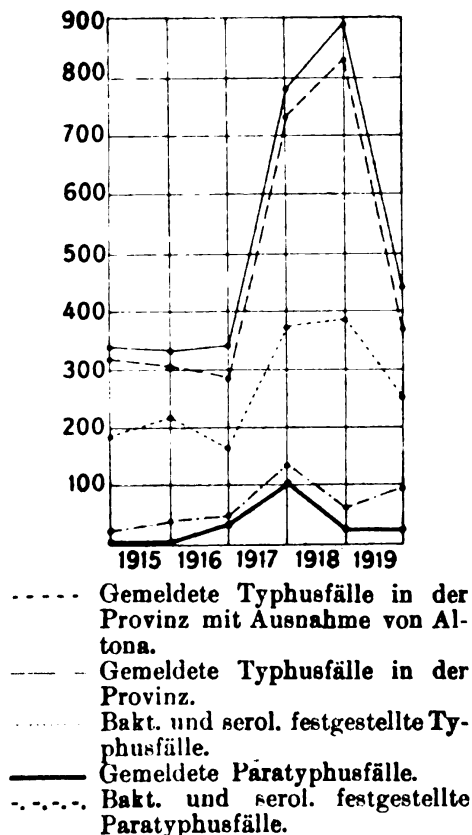
Zur Erklärung der niedrigeren Ausbeute von bakteriologischen und serologischen Befunden 1918 gegenüber den Vorjahren und 1919 muß ich zunächst auf den Umstand hinweisen, daß im Untersuchungsamt in Kiel bis Mitte 1917 sehr viele Untersuchungen, welche Angehörige der Truppe und Kriegsgefangene betrafen, ausgeführt wurden. Von Juni 1917 ab sind diese Untersuchungen fast ausnahmslos in der für diese Zwecke eigentlich zuständigen Untersuchungsstelle Altona gemacht worden. Die Gründe für diesen Wechsel sind lediglich auf verwaltungstechnischem Gebiete zu suchen. Gleichmäßig sind während des ganzen Krieges die im Bereiche des Untersuchungsamtes Kiel stationierten Marinetruppen in den in Betracht kommenden Fällen in der Hygienischen Untersuchungsstelle der Marinestation der Ostsee in Kiel untersucht worden. Während also in den ersten Kriegsjahren unser Untersuchungsmaterial ziemlich vollkommen auf die überhaupt in der Provinz vorgekommenen Typhusfälle bezogen werden kann, ist diese Beziehung 1917 und 1918 nur eine teilweise. Leider geht aus den mir zugänglichen Nachweisungen über die amtlich gemeldeten Fälle von übertragbaren Krankheiten sicher nicht einwandfrei hervor, wie viele der gemeldeten Typhus- und Paratyphusfälle Militärpersonen und Kriegsgefangene betreffen. Beispielsweise meldet diese „Nachweisung“ für 1917 nur 26 Soldaten, die an Typhus.

1, der an Paratyphus und 1 Kriegsgefangenen, der an Typhus erkrankt ist, zusammen also 28 typhöse Krankheiten. Wagner (6), der damalige Leiter der Hygienischen Untersuchungsstelle der Ostseestation in Kiel, teilt aber in seiner Arbeit: „Beiträge zur Epidemiologie und Bakteriologie des Paratyphus A usw.“ mit, daß er in diesem Zeitraume allein 15 Typhen, 17 Paratyphen B und 2 Paratyphen A durch Züchtung der Erreger bei Marineangehörigen feststellen konnte, die, wie er mir persönlich erklärt hat, sämtlich polizeilich gemeldet sein sollen. Für 1918 sind die entsprechenden Zahlen folgende: Für Schleswig-Holstein nach den „Nachweisungen“ gemeldet 23 Typhusfälle und 1 Paratyphusfall von Militärangehörigen, 2 Typhusfälle von Kriegsgefangenen. Wagner ermittelt durch Züchtung allein 40 Typhusfälle, 1 Paratyphus A- und 19 Paratyphus B-Fälle. Ich habe wegen dieser offenbaren Unsicherheit der Meldungen bezüglich erkrankter Militärpersonen auf einen Abzug der Angehörigen des Heeres und der Marine sowie Kriegsgefangene betreffenden typhösen Erkrankungen, von denen mir Untersuchungsmaterial sicher nicht zugegangen ist, verzichtet. Ein einigermaßen einwandfreies Bild über die Beteiligung des Militärs hinsichtlich der Typhusfrequenz 1917 und 1918 zu gewinnen, war mir eben nicht möglich. Vom zuständigen Sanitätsamt habe ich ebenfalls keine diesbezüglichen Angaben erlangen können. Sicher ist jedenfalls, daß, während unser Untersuchungsamt 1914—1916 und 1919 in der überwiegenden Anzahl der vorgekommenen Fälle zur bakteriologischen und serologischen Klärung zuständig war, vom Juni 1917 bis Ende 1918 sehr viel Untersuchungsmaterial an andere Stellen eingeschickt wurde.

Die gemeldeten Fälle für Altona, die ich meiner Meinung nach ziemlich einwandfrei aus den „Nachweisungen“ ermitteln konnte, habe ich bei meinen Berechnungen überall abgezogen. Eine Kurve möge das Verhältnis der in der Provinz Schleswig-Holstein gemeldeten und von uns bakteriologisch bzw. serologisch festgestellten Typhus- und Paratyphus B-Fälle veranschaulichen. Das eigenartige Verhalten der Paratyphus B-Kurven ist von mir an anderer Stelle erklärt worden (7).

Um das Sinken unserer positiven Typhusbefunde 1917 und 1918 zu erklären, diene noch folgende Tabelle (S. 346).

Man sieht aus dieser Zusammenstellung, daß tatsächlich in diesen beiden Jahren die Zahl der eingesandten Untersuchungsproben mit Bezug auf die gemeldeten Fälle die niedrigste ist, die in dem bearbeiteten Zeitraum erreicht wurde. Für 1918 ist außer dem oben Gesagten hervorzuheben, daß in ihm 2 nennenswerte Typhusepidemien, die vorzugsweise



Kurve 1.



Auf	321	gemeldete	Fälle	kamen	1914	3877	Proben
„	100	„	„	„	„	1208	„
„	312	„	„	„	1915	4857	„
„	100	„	„	„	„	1557	„
„	320	„	„	„	1916	3019	„
„	100	„	„	„	„	943	„
„	843	„	„	„	1917	6021	„
„	100	„	„	„	„	714	„
„	854	„	„	„	1918	6440	„
„	100	„	„	„	„	754	„
„	383	„	„	„	1919	4781	„
„	100	„	„	„	„	1249	„

die Zivilbevölkerung betrafen, in Kiel und Schusterkrug (Kreis Eckernförde), vorkamen. Die Kieler Epidemie umfaßt von Juli bis Dezember allein 267 gemeldete Fälle, davon 213 in der Zeit vom 14. 7–21. 9. Von der Massenerkrankung in Schusterkrug wurden April bis Mai 40 Fälle gemeldet. Aus dieser letzten Epidemie sind mir überhaupt nur 28 Proben von 12 Personen zugegangen, aus denen ich 10mal die bakteriologische Diagnose „Typhus“ stellen konnte. In der Kieler Epidemie wurden von den 267 gemeldeten Erkrankungen 100 durch Züchtung der Krankheitserreger von mir festgestellt = 37,1 Proz. Ein nicht unerheblicher Teil der Kieler Fälle ist im hiesigen städtischen Krankenhaus untergebracht und daselbst bakteriologisch und serologisch untersucht worden. Alle Jahre sind mir durch diese Untersuchungsstelle eine gewisse Anzahl von Typhusuntersuchungen entgangen, 1918 natürlich besonders viele. Auf einen Abzug der im städtischen Krankenhause untergebrachten und untersuchten Patienten habe ich, weil die genaue Feststellung ihrer Zahl natürlich mit gewissen Schwierigkeiten verbunden war, verzichtet. Tatsache ist jedenfalls, daß 1918 im städtischen Krankenhause fast 200 bakteriologische bzw. serologische Typhusdiagnosen gestellt wurden.

Für die freundliche Ermittlung und Ueberlassung dieser Angabe bin ich Herrn Prosektor Dr. Emmerich zu großem Danke verpflichtet.

Wodurch ist nun die besonders günstige Ausbeute an Züchtungen bzw. Agglutinationsbefunden 1919 gegenüber allen Vorjahren zu erklären? Einmal dadurch, daß, meiner Meinung nach, ein großer Teil der Aerzte im Felde gelernt hat, den Wert der bakteriologischen Untersuchungsmethoden zu schätzen. Man sieht, daß das Jahr 1919 mit 1249 eingesandten Proben auf je 100 gemeldeten Typhusfälle an 2. Stelle in meiner Zusammenstellung steht. 1914 und 1915, wo ähnlich hohe oder noch höhere Einsendungszahlen zu verzeichnen sind, sind in diese Zahlen, die für das erstere Jahr etwa 100, für das letztere reichlich 1500 Nummern ausmachenden Ziffern für die in einer größeren Anzahl von Kieler Vereinslazaretten untergebrachten Kriegsverwundeten einbegriffen, die vorschriftsgemäß einer systematischen Durchuntersuchung auf das Bestehen einer etwaigen typhösen Erkrankung unterzogen wurden. Einen Abzug dieser Zahlen halte ich aus dem Grunde nicht ohne weiteres für gerechtfertigt, weil ich unter diesen Verwundeten gelegentlich doch einmal einen positiven Befund erheben konnte. Immerhin verdient die angeführte Tatsache Beachtung. 1916–1919 ist die Zahl der von mir diesbezüglich untersuchten Militärpersonen fortschreitend geringer geworden, 1919 fast 0.

Noch ein anderer Befund läßt sich aus der Zusammenstellung vielleicht mit großer Vorsicht erheben, nämlich der, daß Schmitz in der

Jenaer Epidemie mit einiger Wahrscheinlichkeit unter ungünstigeren Bedingungen hinsichtlich der Anzahl der übersandten Proben gearbeitet hat als ich in Schleswig-Holstein. Selbstverständlich stammen von den Kieler Proben viele von Personen, die gar nicht an einer typhösen Krankheit gelitten haben, wie z. B. fast alle oben genannten Soldatenproben. Wenn man aber die von Schmitz in Jena insgesamt erreichte Zahl von Einsendungen (also einschließlich derer, die von Typhusverdächtigen und eventuellen Dauerausscheidern kamen) betrachtet, so erhält man 2623. Auf 100 gemeldete Typhusfälle kommen also nicht einmal 500 Proben, während ich für die gleiche Anzahl wenigstens 715, im Höchstfalle 1557 zur Untersuchung bekam. Allerdings muß bei dieser Erwägung sehr in Betracht gezogen werden, daß die Zahlen von Schmitz sich nur auf einen Teil des Jahres (Mitte September bis Dezember 1915) beziehen, meine aber für ganze Jahre gelten. Leider stieß die genaue Auszählung derjenigen von meinen Proben, die von sicheren Typhuskranken aus der Provinz stammten, auf unüberwindliche Schwierigkeiten.

Einzig und allein sind unsere besseren Untersuchungsergebnisse jedenfalls nicht auf die größere Menge des uns zur Verfügung stehenden Untersuchungsmaterials zurückzuführen, das dürfte aus Kalthoffs Arbeit doch auch wohl hervorgehen. Sollte aber ersteres auch zutreffen, dann muß man den Aerzten der Provinz Schleswig-Holstein das Verdienst zuerkennen, daß sie durch Einsendungen besonders vieler Proben den bakteriologischen bzw. serologischen Nachweis eines hohen Prozentsatzes der vorkommenden typhösen Erkrankungen ermöglichen, ein Verdienst, das noch größer wird, wenn man die Arten der Proben betrachtet. Schmitz hat in Jena nur 7,9 Proz. Blutproben, die er zu Züchtungszwecken benutzte, erhalten, bei uns waren, wie aus der nachstehenden Zusammenstellung hervorgeht, in unserem ungünstigsten Jahre 1918 13,1 Proz. aller eingesandten Proben solche Blutproben, in den übrigen Jahren noch mehr. Derartig kleine Blutmengen, daß sie zu Züchtungszwecken nicht benutzt werden können, laufen bei uns nur außerordentlich selten ein. Es sind in dem behandelten Zeitraume kaum 10 gewesen. Bemerkt werden muß, daß unsere Blutröhrchen 6 ccm fassen und schon seit 1906 in Gebrauch sind. Leider entspricht der eingesandte Inhalt nicht immer ihrer Größe. Hingewiesen werden muß noch auf die Tatsache, daß Schmitz aus seinen ganzen untersuchten 2623 Proben nur 72mal Typhusbakterien züchtete, was einer Prozentzahl von 2,8 entspricht. Unsere Ausbeuten sind deutlich höher. Die entsprechenden Prozentzahlen betragen bei uns 1914: 4,13, 1915: 3,6, 1916: 5,5, 1917: 5,97, 1918: 4,7 und 1919: 5,5. Das sind Zahlen, die, mit Ausnahme von 1914 und 1915, größer sind als die von Schmitz für seine 1567 von sicheren Typhuspatienten stammenden erreichte. Schmitz fand nämlich in diesen 1576 Proben 70mal Typhuserreger, also in rund 4,5 Proz.

Als weiteren Beweis für die obige Annahme, daß die Aerzte im Kriege gelernt haben, die bakteriologischen Untersuchungsämter noch mehr als bislang zu schätzen, teile ich folgende Zahlen aus zwei Kreisen mit, die in früheren Jahren, was die Einsendung von Proben anbetrifft, zu den „Schmerzenskindern“ des Untersuchungsamtes gehörten. Es handelt sich diesmal nicht um auf Typhus zu untersuchende Proben allein, sondern um die Gesamtzahl der eingehenden Proben überhaupt:

## Es trafen Untersuchungsproben ein aus dem Kreise

	X	Y		X	Y
1914	192	172	1917	316	366
1915	145	127	1918	216	325
1916	117	221	1919	395	629

Selbstverständlich muß darauf hingewiesen werden, daß sich in den Jahren, auf die sich meine Berechnung bezieht, in diesen Kreisen keine nennenswerte Epidemie ereignet hat. Im Kreise Y sind allerdings 1918 mehr Typhusfälle gemeldet als in jedem der 5 vorhergehenden Jahre.

Auch der Einfluß, den die Auswahl der Proben auf den Ausfall der bakteriologischen und serologischen Untersuchungsergebnisse bezüglich typhöser Erkrankungen ausübt, scheint einer Anzahl von Aerzten im Kriege klar geworden zu sein.

Von	3877	Proben im Jahre	1914	waren	Blutproben	607 = 15,0	Proz.
"	4857	"	"	"	"	717 = 15,0	"
"	3019	"	"	"	"	557 = 18,4	"
"	6021	"	"	"	"	939 = 15,5	"
"	6440	"	"	"	"	845 = 13,1	"
"	4781	"	"	"	"	978 = 20,4	"

1919 waren, wie vorstehende Zusammenstellung zeigt, 20,4 Proz. aller eingesandten Proben Blutproben, während das für unsere Untersuchungsergebnisse so ungünstige Jahr 1918 in dieser Beziehung die niedrigste Zahl mit 13,1 Proz. erreicht. 1914 habe ich in der Zusammenstellung 250 Blutproben von der Gesamtzahl der tatsächlich eingesandten abgezogen, die von den oben erwähnten systematisch durchuntersuchten verwundeten Kriegsteilnehmern aus einem Vereinslazarett stammten, und aus denen ich niemals einen sicheren positiven Befund erheben konnte. 1915 und 1916 wären auch noch eine Anzahl derartiger Blutproben abzuziehen; doch halte ich auch diesen Abzug wieder für nicht unbedingt erlaubt, weil einige wenige von den Proben ein positives Resultat gaben.

1919 habe ich schließlich den Eindruck gewonnen, als wenn die eingesandten Blutproben im allgemeinen reichlicher bemessen gewesen wären wie in den früheren Jahren. Es handelt sich, wie gesagt, nur um eine Vermutung; genauere Erhebungen darüber sollen demnächst angestellt werden.

Es wäre falsch, anzunehmen, daß 1919 die Untersuchung der eingesandten Blutproben notwendigerweise die höchste Ausbeute an positiven Züchtungsbefunden gezeitigt hätte. Eine Zusammenstellung hat mir gezeigt, daß das keineswegs der Fall ist. 1918 übertrifft z. B. in dieser Hinsicht 1919 deutlich.

## Positive Blutzüchtungsergebnisse:

1914	121 = 74,2	Proz. der positiven Züchtungen
1915	110 = 64,0	" " " "
1916	61 = 36,3	" " " "
1917	144 = 40,0	" " " "
1918	170 = 55,7	" " " "
1919	129 = 48,0	" " " "

Man sieht jedenfalls, daß die Stuhl- und Urinuntersuchung doch einen ganz bedeutenden Wert für die bakteriologische Diagnosestellung hat.

Eines scheint mir, auch abgesehen vom Jahre 1919, festzustehen: nämlich, daß im Bereiche des Untersuchungsamtes Kiel die Anzahl der bakteriologisch bzw. sero-

logisch geklärten Fälle typhöser Erkrankungen, bezogen auf die gemeldeten, die der von Schmitz auf gleiche Weise bei der Jenaer Epidemie festgestellten bei weitem überholt. Ganz besonders die Züchtungsergebnisse sind deutlich besser als die seinigen. Die von Kalthoff ausgesprochene Vermutung, daß Schmitz unter besonders ungünstigen Bedingungen gearbeitet hat, erscheint mir berechtigt. Allgemeingültigkeit kann ich seinen Untersuchungsergebnissen unter diesen Umständen nicht zuerkennen.

Unsere Züchtungsergebnisse sind ohne Ausnahme auf den von mir angegebenen Chinablau-Nährböden erzielt.

#### Literatur.

- 1) Schmitz, K. E. F., Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose, gemessen an den Untersuchungsergebnissen bei der Typhusepidemie in Jena 1915. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 221.) — 2) Müller, Reiner und Gräf, Heinr., Wert der Blutuntersuchung für die Typhusdiagnose. (Ebenda. Bd. 43. S. 856.) — 3) Kalthoff, Max Heinr., Ueber die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose. (Ebenda. Bd. 79. S. 145.) — 4) Schmitz, K. E. F., Was leistet die bakteriologische Typhusuntersuchung? (Ebenda. Bd. 80. S. 1.) — 5) Klinger, Epidemiologische Beobachtungen bei der Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 30. S. 605.) — 6) Wagner, Gerh., Beiträge zur Epidemiologie und Bakteriologie des Paratyphus A, sowie Untersuchungen über das Gärvermögen der Typhoideen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 39.) — 7) Bitter, Ludw., Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. S. 110.)

*Nachdruck verboten.*

### Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit des Herrn Professor Dr. Bitter-Kiel.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Jena.]

Von Prof. Dr. Abel.

Die Abhandlung des Herrn Prof. Bitter knüpft an eine aus unserem Institut hervorgegangene Veröffentlichung von K. E. F. Schmitz über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose an, in der diese recht ungünstig beurteilt worden war, und spricht dem Urteil von Schmitz nach den Erfahrungen im Hygienischen Institut zu Kiel die Allgemeingültigkeit ab.

Ich möchte hierzu kurz folgendes bemerken:

Nach Mitteilungen in der Literatur, namentlich auch aus dem Gebiete der Reichstyphusbekämpfung in Südwestdeutschland, begann sich die Vorstellung einzunisten, daß die bakteriologische Typhusdiagnose mit Hilfe der neueren Züchtungsverfahren zu einem hohen Grade von Sicherheit entwickelt worden sei. Wurden doch Zahlen von 90 und mehr vom Hundert positiver Züchtungserfolge angegeben. Meine eigenen Beobachtungen widersprachen dem. Eine große Typhusepidemie in Jena gab Gelegenheit, an einem einheitlichen und durchweg individuell feststellbaren Material einmal zu prüfen, was denn eigentlich bei der heute üblichen Untersuchungsweise, wo der Arzt nach seinem Ermessen einschickt und der Bakteriologe untersucht, was er bekommt, an positiven bakteriologischen Befunden in klinisch sicheren Typhusfällen herausspringt. Herr Privatdozent Dr. Schmitz unterzog sich mit großem

Eifer der mühevollen Arbeit des Auszählens und Durchrechnens unseres Materials.

Was er fand, bestätigte unsere Mutmaßungen und Eindrücke. Die Stuhluntersuchung erwies sich trotz aller ihrer Verbesserungen als ein recht unsicheres, sehr oft versagendes Verfahren. Die bakterielle Blutuntersuchung lieferte, wie ja schon bekannt war, viel bessere Erfolge, schien aber doch von den Aerzten noch nicht durchweg richtig benutzt zu werden. Einwirkung auf die Aerzte, zur rechten Zeit das richtige Material zur Untersuchung einzusenden, ihre Belehrung darüber, daß einmalige negative Untersuchung, namentlich von Stuhlproben, nicht erlaubt, bei einem klinisch als Typhus verdächtigen Fall den Typhusverdacht fallen zu lassen, sondern daß wiederholt und verschiedenes Material untersucht werden muß, — das waren die praktischen Folgerungen, die sich aus den Schmitzschen Berechnungen ergaben. In einem Anhang zu der Arbeit von Schmitz habe ich an der Hand der Feststellungen bei einer anderen, kleinen Epidemie diese Gesichtspunkte noch einmal besonders hervorgehoben. Auch Schmitz hat den Zweck seiner Arbeit in der Berl. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 24 nochmals im gleichen Sinne betont.

Nun hat schon Kalthoff, der unter Bitters Leitung arbeitete, in diesem Centralbl. Bd. 79 S. 145 sich gegen Schmitz gewendet und mitgeteilt, er habe bessere Ergebnisse erzielt. Ihm hat Schmitz Bd. 80. S. 1 geantwortet. Jetzt teilt auch Bitter mit, die von Schmitz gefundenen Werte seien, mit den seinigen verglichen, sehr ungünstig; die heutige bakteriologische Arbeitsweise leiste mehr, als Schmitz annehme.

Daß die Veröffentlichungen von Kalthoff und Bitter den Beweis dafür erbrächten, vermag ich nicht anzuerkennen. Ihre Ergebnisse sind mit denen von Schmitz überhaupt nicht vergleichbar, weil sie an ganz anderem Material erhalten oder (bei Bitter) anders berechnet worden sind. Kalthoff hat Fälle der Medizinischen Klinik in Kiel verwertet. Im wissenschaftlich vollkommenen Betriebe einer Hochschulklinik arbeitet man anders als der Praktiker. Da will man die mit allen klinischen Hilfsmitteln und Kenntnissen gestellte Diagnose auch bakteriologisch gesichert haben und ruht und rastet nicht, bis dies Ziel womöglich erreicht ist. Sagt doch Kalthoff selbst: „Verhältnismäßig groß ist die Zahl der negativen Untersuchungen, die bis zum 1. positiven Befund gemacht wurden.“ Der praktische Arzt ist — wenigstens heute noch und von Ausnahmefällen abgesehen — nicht so beharrlich. Er kennt die Schwierigkeiten der bakteriologischen Typhusdiagnose nicht genug und gibt wohl nur zu oft schon, wenn die erste Einsendung negativen Befund hatte, das Rennen und vielleicht seine Diagnose auf. — Bitter führt eine ganz seltsame Berechnungsweise seiner Erfolge ein, indem er die positiven Züchtungsbefunde nicht auf die Zahl der untersuchten Personen, sondern auf die der polizeilich gemeldeten Typhusfälle bezieht. Die genaue Auszählung derjenigen seiner Proben, die von sicheren Typhuskranken stammten, stieß auf unüberwindliche Schwierigkeiten, sagt er. Nur diese Auszählung gäbe aber mit den Befunden von Schmitz vergleichbare Werte. Bitter stellt fest, daß er, auf den einzelnen Fall bezogen, weit mehr Untersuchungsproben erhalten hat, als Schmitz. Hat er da nicht vielleicht auch in seinen positiven Fällen mehr Untersuchungsproben empfangen als wir? Damit wäre die von uns gewünschte Bedingung häufigerer Einsendungen vom gleichen Falle erfüllt und Bitters besserer Züchtungserfolg erklärt.

Kalthoff und Bitter können aber auch mit ihren gerühmten Züchtungserfolgen so sehr viel Staat nicht machen. Denn 21,8 v. H. positive Züchtungserfolge z. B. von Stuhluntersuchungen bei Kalthoffs Klinikfällen während der ersten 5 Krankheitswochen und 30,1 v. H. in der 2. Krankheitswoche sind, wenn auch besser als Schmitz' Werte, doch recht mäßige Ergebnisse. Und Bitter kommt zwar im günstigsten Jahre auf 70,0 v. H., sinkt aber im schlechtesten auf 35,8 v. H. bei Züchtung aus Stuhl und Blut. — Herr Uhlenhuth hat mir letzthin erzählt, bei der doch sicher technisch auf der Höhe stehenden organisierten Typhusbekämpfung in Straßburg sei man bei wiederholten Stuhl- und Urinuntersuchungen der Typhuskranken auf Typhusbazillen doch nicht über 55—62 v. H. positiver Befunde hinausgelangt.

Mögen also auch unsere von Schmitz mitgeteilten Befunde wirklich besonders ungünstig sein, — begeisternd sind die Anderer auch nicht. Mit der Sicherheit der bakteriologischen Diphtheriediagnose beispielsweise kann sich die Typhuszüchtung doch nicht entfernt messen! Sich darüber klar zu sein und den Aerzten demgemäß Richtlinien für vielseitige und wiederholte Probeneinsendungen an die Untersuchungsanstalten zu geben, war das praktische Ziel der Schmitzschen Veröffentlichung. Und dieses Ziel bleibt bestehen.

Noch zweierlei sei erwähnt:

Im 2. Absatz seiner Arbeit rechnet Bitter die Schmitzschen Züchtungserfolge an 443 Untersuchten prozentual auf alle 537 Erkrankten um und bekommt dadurch natürlich noch niedrigere Erfolgsziffern. Daß dies Verfahren methodologisch nicht anwendbar ist, liegt auf der Hand.

Weiterhin weist Bitter den Vorschlag von Schmitz, das Blut defibriniert zu untersuchen, auf Grund älterer Erfahrungen von Müller und Gräf und eigener, ebenso wie den Zusatz von Hirudin ab. Ich lasse die Zweckmäßigkeit des Schmitzschen Vorschlages ganz dahingestellt sein. Aber warum wendet sich Bitter nicht auch gegen seinen Schüler Kalthoff, der den Hirudininzusatz in seiner Abhandlung S. 153 doch empfiehlt?

*Nachdruck verboten.*

## Entgegnung auf die vorstehenden Bemerkungen des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Abel.

Von Prof. Dr. Ludwig Bitter.

Der Zweck der von Kalthoff und mir verfaßten Arbeiten ist der, festzustellen, was die üblichen Typhusuntersuchungsverfahren leisten und was sie leisten können.

Daß sowohl Kalthoff wie auch ich unter günstigeren Bedingungen gearbeitet haben als Schmitz haben wir beide niemals in Abrede gestellt, sondern ausdrücklich betont, um dadurch die schlechten Resultate von Sch. wenigstens zum Teil zu erklären. Wenn ich nicht glaubte, von einer Reihe meiner positiven Fälle mehr Untersuchungsproben erhalten zu haben wie Sch. von den seinigen, so würde ich auf das Verhältnis der Probenzahl zu den positiven Befunden nicht haben hinzuweisen brauchen.

Ich habe weiterhin die Vorschläge von Schmitz und damit wohl die in gleicher Richtung zielenden des Herrn Geheimrat Abel zur Erreichung besserer Resultate (Einwirkung auf die einsendenden Aerzte) als beachtens- und beherzigenswert (S. 340) bezeichnet, muß aber auf dem Standpunkte bleiben, daß die Aerzte der Provinz Schleswig-Holstein in dieser Hinsicht offenbar geschulter sind als die Aerzte Jenas, und ich habe auf S. 347 meiner Veröffentlichung darauf hingewiesen, daß meine Schmitz gegenüber sicher besseren Erfolge zweifellos dadurch mitbedingt sind, daß die Aerzte zahlreiche und im allgemeinen geeignete und ausreichende Proben einsenden.

Daß Kalthoffs Material noch insofern eine Besonderheit darstellt, als es in klinischer Behandlung war, hat er nie geleugnet, wohl aber in Abrede gestellt, daß Schmitz' unserer Meinung nach schlechten Ergebnisse allein durch das Fehlen dieser klinischen Behandlung selbstverständlich würden. Er ist dazu um so mehr berechtigt, als Schmitz doch zu Anfang seiner Arbeit eigens betont, daß fast alle seine Patienten in Krankenhausbehandlung lagen. Dieses Krankenhaus liegt nicht so sehr viel weiter vom Jenaer Untersuchungsamt entfernt als die Medizinische Klinik in Kiel vom hiesigen Untersuchungsamt.

Wenn ich meine positiven Ergebnisse nicht auf die Zahl der untersuchten Typhuskranken oder auf die Zahl der von sicheren Typhuskranken stammenden Proben, sondern auf die gemeldeten Fälle beziehe, so halte ich das für eine sehr vorsichtige Art der Berechnung. Es war außerdem der einzige Weg, der für mein großes, aus der ganzen Provinz Schleswig-Holstein stammendes Material zu beschreiten war. Meine Ergebniszahlen stellen Minimalzahlen in des Wortes strengster Bedeutung vor. Trotzdem überholen diese Zahlen, bezogen auf die Gesamtzahl der eingesandten, auf Typhus zu untersuchenden Proben, wenigstens vom Jahre 1916 ab, die positive Ergebniszahl von Schmitz, bezogen auf die Proben, die von sicher Typhuskranken aus der Jenaer Epidemie ihm zur Verfügung standen. Wenn Herr Geheimrat Abel es ablehnt, die von mir errechnete Prozentzahl der positiven Ergebnisse von Schmitz bezogen auf die in Jena gemeldeten Typhusfälle anzuerkennen, so dürfte jedenfalls der eben angeführte Umstand, daß ich aus meinen sämtlichen zur Typhusuntersuchung eingesandten, aus der ganzen Provinz Schleswig-Holstein stammenden Proben häufiger zu positiven Diagnosen kam als Schmitz bei der Untersuchung seines Materials von sicheren Typhuskranken, zu denken geben.

Die von Herrn Geheimrat Abel mitgeteilten Resultate Uhlenhuths bezüglich der Stuhl- und Urinuntersuchungen im Südwesten Deutschlands scheinen mir außerordentlich günstig und werden wohl nur in der von mir auf S. 344 gelegentlich der Erwähnung Klingers angedeuteten Weise erklärt. Sie mit meinen Stuhl-, Urin- und Blutzüchtungsergebnissen ohne weiteres zu vergleichen, würde ich Bedenken tragen.

Daß die von Kalthoff veröffentlichten Erfolge von Stuhl- und Urinuntersuchung bei sicher Typhuskranken mich durchaus nicht befriedigt haben, habe ich nicht unterlassen auf S. 341 meiner Arbeit hervorzuheben.

Wenn meine positiven Züchtungsergebnisse in den einzelnen Jahren zwischen 70 und 35,8 Proz. (bezogen auf die gemeldeten Fälle) schwanken,

	Kalthoff	Bitter	Schmitz	Uhlenhuth
<b>A. Stuhlzuchtungen.</b>				
Verhältnis der positiven Stuhluntersuchungen zur Gesamtzahl der Stuhluntersuchungen von sicher Typhuskranken in den ersten 5 Krankheitswochen	21,8 Proz.	.	8,68 Proz.	.
Verhältnis der positiven Stuhluntersuchungen zur Gesamtzahl der Stuhluntersuchungen von sicher Typhuskranken in der zweiten Krankheitswoche	30,1 Proz.	.	10,71 Proz.	.
Verhältnis der aus der Stuhluntersuchung positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der auf Stuhl untersuchten Typhuskranken in den ersten 5 Krankheitswochen	22,8 Proz.	.	14,17 Proz.	.
<b>B. Stuhl- und Urinzuchtungen.</b>				
Verhältnis der positiven Stuhl- und Urinuntersuchungen zur Gesamtzahl der Stuhl- und Urinuntersuchungen von sicher Typhuskranken überhaupt	.	.	.	55—62 Proz.?
Verhältnis der aus Stuhl- und Urinuntersuchung positiv befundenen Kranken zur Gesamtzahl der auf Stuhl und Urin untersuchten Kranken überhaupt	.	.	.	55—62 Proz.?
<b>C. Stuhl-, Urin- und Blutzuchtungen.</b>				
Verhältnis der positiven Zuchtungen zur Zahl der polizeilich gemeldeten Typhusfälle	.	1914 = 50,7 Proz.	13 Proz.	.
		1915 = 55,4 "		
		1916 = 52,5 "		
		1917 = 41,5 "		
		1918 = 35,8 "		
		1919 = 70,0 "		
Verhältnis der positiven Zuchtungen zur Zahl der bakteriologisch untersuchten Typhusfälle	.	> 35,8 Proz.	16,82 Proz.	.
Verhältnis der positiven Zuchtungen zur Zahl der von sicheren Typhuskranken stammenden Proben	.	.	4,5 Proz.	.
Verhältnis der positiven Zuchtungen zur Zahl der zur Typhusuntersuchung eingesandten Proben überhaupt	.	1914 = 4,13 Proz.	2,8 Proz.	.
		1915 = 3,6 "		
		1916 = 5,5 "		
		1917 = 5,97 "		
		1918 = 4,7 "		
		1919 = 5,5 "		



so habe ich die Gründe für das starke Sinken 1917 und 1918, wie ich glaube, einigermaßen überzeugend dargetan.

Ich habe den Vorschlag von Kalthoff, die von Schmitz wieder einmal empfohlene Defibrinierung des Blutes, und zwar mit Hilfe von Hirudin, vorzunehmen (Reiner Müller, Gräf) nicht weiter unterstützt, weil ich seit 1915 mit dem von mir seit 1914 geübten 48-stündigen Bebrütungsverfahren in Galle derartig gute Erfolge gehabt habe, daß ich die Defibrinierung als „nicht dringend erforderlich“ bezeichnen konnte (S. 340).

Schon Kalthoff hat auf die Vorzüge dieser 48-stünd. Bebrütung hingewiesen und an einem allerdings relativ kleinen Material von 110 Fällen mit 64 positiven Befunden, von denen in die erste Krankheitswoche 21 mit 18 positiven = 85,7 Proz. fallen, dargetan, daß auf diese Weise außerordentlich Gutes geleistet werden kann.

Am deutlichsten dürfte wohl die in den Arbeiten von Herrn Priv.-Doz. Dr. K. E. F. Schmitz, Herrn Geheimrat Professor Dr. Abel, Dr. Kalthoff und mir diskutierte Sachlage aus vorstehender Tabelle hervorgehen.

Ueber meine einleuchtend besseren Blutzüchtungsergebnisse scheint, da jegliche Diskussionsbemerkung fehlt, Einigkeit zu bestehen.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über den Pfeifferschen Bazillus<sup>1)</sup>.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B. (Geheimrat Hahn).]

### III. Mitteilung.

Von Privatdozent Dr. O. Olsen.

#### Pfeifferscher Bazillus und Encephalitis epidemica.

Wie die epidemische Influenza, mit der nach Klinik und Epidemiologie vielleicht Zusammenhänge bestehen, gibt auch die Encephalitis lethargica in ätiologischer Beziehung Rätsel auf. In früheren Mitteilungen (1) habe ich eine Reihe derjenigen Momente aufgeführt, die, entgegen der fast allgemein herrschenden Ansicht, immer noch veranlassen müssen, dem Pfeifferschen Bazillus eine wichtige, wenn nicht entscheidende Rolle bei der Entstehung der Grippe zuzuschreiben. Letztthin hat auch Neufeld (2) den Standpunkt verfochten, daß das Verhalten des Pfeifferschen Bazillus in keinem wesentlichen Punkte dem widerspricht, was wir von dem Grippeerreger zu erwarten haben.

Ist nun die Encephalitis lethargica eine besondere Erscheinungsform der Grippe, so war bei der Bedeutung des Influenzabazillus für die

1) Ergänzende Bemerkung zu dem Abschnitte Untersuchungen über den „filtrierbaren Grippeerreger“ der I. Mitteilung. (Diese Zeitschr. Bd. 84. H. 7/8)

Zu den Literaturangaben dieser Mitteilung ist ergänzend zu bemerken, daß E. Friedberger und P. Konitzer (10) bereits vor Selter Infektionsversuche am Menschen mit filtriertem Sputum von frischen und älteren Grippefällen mitteilten. Es handelt sich um 35 Versuche an 26 Versuchspersonen, die sämtlich negativ ausfielen. Wenn auch derartige negative Resultate, wie die Verf. selbst betonen, immer nur sehr eingeschränkt zu verwerten sind, so kommt ihnen doch als Stütze dafür, daß ein filtrierbares Virus für die Grippe nicht in Frage zu kommen braucht, Bedeutung zu.

Aetiologie der Grippe eine Untersuchung über sein Vorkommen bei der Encephalitis lethargica von besonderem Interesse.

Während der Grippeepidemien der neunziger Jahre und ihrer Ausläufe wurden im Zentralnervensystem von Fällen, die klinisch und pathologisch-anatomisch zerebrale Erscheinungen boten, von Pfuhl sowie von Nauwerck (4) Pfeiffersche Bazillen oder diesem ähnliche Bakterien gefunden. Während der letzten Epidemie glückte kürzlich Löwenthal (5) der Nachweis von Influenzabazillen in der Milz eines obduzierten Falles von Encephalitis lethargica. Nach Niederschrift dieser Mitteilung erschien eine Veröffentlichung von Manteufel (6), in der dieser über den Befund von Influenzabazillen im Luftröhrensekret bei einem Sektionsfall berichtet.

Dank dem Entgegenkommen des Herrn Dr. Grünewald konnte ich die in der Psychiatrischen Klinik beobachteten und von ihm beschriebenen (7) Encephalitisfälle bakteriologisch und serologisch untersuchen. Insgesamt wurden bisher 10 Fälle nach allen Richtungen untersucht. Da keiner der bisher beobachteten Fälle einen ungünstigen Ausgang nahm, konnte nur Blut, Liquor und Rachensekret vom Lebenden geprüft werden.

Mikroskopische Ausstriche und Kulturen von Liquor und Blut, die unter den verschiedensten Bedingungen, aërob und anaërob mit und ohne Ascites und Blutzusatz angesetzt, namentlich aber auf Pfeiffersche Bazillen untersucht wurden, zeigten sich frei von Keimen. Auch Giemsa-Präparate und Dunkelfelduntersuchungen (s. die Spirochätenbefunde von Sittmann) wiesen keine Besonderheiten auf. Der von Wiesner (8) beschriebene Diplostreptococcus wurde ebenfalls vermißt.

Auf Blutagarkulturen von Rachensekret, das sich in fast sämtlichen Fällen durch eine eigentümliche schleimige Beschaffenheit auszeichnete, fanden sich neben Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken usw. bei 4 von 10 Fällen Influenzabazillen in spärlicher Zahl.

Dieser Befund, der die Anwesenheit des Influenzabazillus in einem allerdings geringen Hundertsatz im Rachensekret von Encephalitis-kranken erwies, ist zwar bemerkenswert, weil mir bisher der Nachweis von Pfeifferschen Bazillen bei Gesunden nie glückte. Bei der geringen Zahl der untersuchten Fälle dürfte er weitgehende Schlüsse aber kaum erlauben.

Möglicherweise konnten nun serologische Untersuchungen weitere Aufklärung über die Rolle des Influenzabazillus bringen. Die Ergänzung der Untersuchung durch serologische Methoden schien auch aus einem anderen Grunde von Interesse. Wie Grünewald mitgeteilt hat, konnte er an seinem Material, an dem auch die hier angeführten Untersuchungen angestellt sind, eine günstige Einwirkung von polyvalentem Grippeserum Höchst, das Schutzstoffe gegen Streptokokken, vor allem aber auch gegen Influenzabazillen, enthält, beobachten. Eine noch günstigere Wirkung sah er durch Injektionen von Rekonvaleszentenserum eintreten, während reines Pferdeserum versagte. Es fragte sich daher, ob der günstige Einfluß des Rekonvaleszentenserums, wenn es sich überhaupt um eine spezifische Wirkung handelt, auf dem Gehalt an Schutzstoffen gegen Influenzabazillen beruhen könnte, die im Höchster Grippeserum ja vorhanden waren und dessen günstige Wirkung erklären könnten.

Es wurden daher die Sera der Patienten, namentlich aber die zu therapeutischen Zwecken verwendeten Rekonvaleszenten sera auf agglutinierende und komplementbindende Antikörper gegen Influenzabazillen untersucht. Als Aufschwemmung für die Agglutination und als Extrakt für die Komplementbindung dienten 3 Influenzabazillenstämmen, die während des Frühjahrs 1920 aus Grippesektionen isoliert worden waren. Diese Stämme zeigten mit dem untersuchten Grippeserum Höchst deutliche Agglutination und Komplementbindung. Dagegen konnten in keinem Fall in den Sera und Rückenmarksflüssigkeiten der Encephalitiskranken und -rekonvaleszenten, auch nicht derjenigen Patienten, in deren Rachensekret sich Influenzabazillen gefunden hatten, agglutinierende oder komplementbindende Antikörper gegen die verwendeten Stämme nachgewiesen werden.

Zur Deutung dieser Befunde kann die von Bieling (9) für das agglutinatorische Verhalten nachgewiesene Tatsache herangezogen werden, daß es verschiedene serologische Typen der Pfeifferschen Bazillen gibt.

Nach Bieling gibt es monovalente Influenzabazillenstämmen. Ein mit einem monovalenten Stamm hergestelltes Immunserum agglutiniert nur den Behandlungsstamm. Außerdem gibt es auch polyvalente Influenzastämme. Ein mit einem solchen hergestelltes Immunserum agglutiniert außer dem Behandlungsstamm auch andere monovalente und polyvalente Stämme.

Die Möglichkeit wäre daher immerhin nicht auszuschließen, daß die Influenzabazillen, die bei einigen unserer Encephalitisfälle nachgewiesen werden konnten und die möglicherweise auch bei den anderen Fällen vorhanden waren, sich aber dem Nachweis entzogen hatten, einem besonderen monovalenten Typus angehörten. Da die durch monovalente Stämme gebildeten Antikörper, in unserem Fall also die in den Patientenserum vermuteten, immer nur mit den entsprechenden Stämmen reagieren, so wäre es erklärlich, warum eine Agglutination mit den von mir verwendeten Stämmen ausblieb, die anderen Typen angehören könnten. Die günstige Wirkung des polyvalenten Höchster Serums wäre zu verstehen, weil das Immunserum polyvalenter Stämme, um das es sich ja hier handelt, auch monovalente Stämme beeinflusst. Leider konnten dieselben Versuche mit den Stämmen, die sich im Rachen der Encephalitiskranken gefunden hatten, nicht angestellt werden, weil ihre Weiterzüchtung fehlschlug. Eine Wiederaufnahme der Versuche nach dieser Richtung soll aber erfolgen, sobald frische Fälle zur Beobachtung kommen.

Mit der Annahme, daß der Erreger von Grippe und Encephalitis lethargica der gleiche ist, läßt sich nur der Standpunkt verknüpfen, daß zwischen diesem Erreger oder seinen Produkten und dem Zentralnervensystem zu gewissen Zeiten sich eine besondere Affinität entwickelt, entweder auf Grund veränderter Eigenschaften des menschlichen oder des parasitären Organismus.

Nun wurde bisher der Pfeiffersche Bazillus außer im Respirationstraktus, im Blut und den übrigen inneren Organen wie Leber, Milz und Gehirn so selten und zumeist so spärlich aufgefunden, daß, wenn in diesen Organen, z. B. im Gehirn, bei der Encephalitis, Veränderungen auftreten, die auf ihn zurückzuführen wären, diese Veränderungen einstweilen nur auf toxische Einwirkung bezogen werden können.

Hat der Pfeiffersche Bazillus primärätiologische Bedeutung für die Grippe und gleichzeitig auch für die Encephalitis lethargica, so müßte man eine besondere toxische, neurotrope Komponente annehmen, die durch zahlreiche Menschenpassagen gebildet oder in ihrer Wirkung verstärkt, vielleicht gleichzeitig durch Resistenzverminderung des menschlichen Körpers begünstigt, zu ihrer charakteristischen Wirkung gelangt. Die Annahme besonderer Influenzastämme mit neurotroptoxischen Eigenschaften ließe sich mit der von Bieling nachgewiesenen Tatsache, daß auch die antigenen Eigenschaften verschiedener Influenzastämme ver-

schieden sein können, in Einklang bringen. Direkte experimentelle Stützen, die uns auf derartige Eigenschaften des Pfeifferschen Bazillus zu schließen erlaubten, liegen zurzeit allerdings nicht im mindesten vor.

Eine Mitteilung der vorliegenden spärlichen Ergebnisse schien namentlich aus dem Grunde angebracht, weil eine Klärung der Aetiologie der Grippe voraussichtlich gerade auf dem Umwege über Untersuchungen bei der Encephalitis lethargica zu erreichen sein wird, vorausgesetzt natürlich, daß der ätiologische Faktor bei beiden Krankheiten derselbe ist. Denn wir haben bei der Encephalitis weit weniger mit dem massenhaften Auftreten der Sekundärerreger zu rechnen, die bei der Grippe das ätiologische Bild so außerordentlich verwischen. Untersuchungen über den Influenzabazillus bei der Encephalitis sind zur Beurteilung seiner Bedeutung daher unbedingt nötig. Das Material, das wir bisher darüber besitzen, ist aber nur sehr dürftig. Eine Aufnahme der Untersuchungen in größerem Umfange wäre daher sehr erwünscht, besonders auch, weil die Dauer des Vorkommens und die Zahl der Fälle bei der Encephalitis nur beschränkt ist. Endgültige Beweise für die Bedeutung des Influenzabazillus werden allerdings auch auf diesem Wege kaum zu erbringen sein. Tierversuche aber anzustellen, die allein nach dieser Richtung aussichtsreich erscheinen, ist in dem erwünschten Umfange bei den zur Zeit verfügbaren Mitteln leider unmöglich.

#### Literatur.

- 1) Olsen, Aerztl. Ver. Hamburg. 7. Jan. 1919; Ders., München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 9; Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. H. 7, 8; Ders., ebenda. Bd. 85. 1920. H. 1. — 2) Neufeld, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 35. — 3) Pfuhl, Berlin. klin. Wochenschr. 1897. Nr. 39; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897. — 4) Nauwerck, Deutsch. med. Wochenschr. 1895. Nr. 25. — 5) Löwenthal, ebenda. 1920. Nr. 11. — 6) Manteufel, Berlin. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 39. — 7) Grünwald, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 45. — 8) Wiesner, Wien. klin. Wochenschrift. 1917. No. 30; ebenda. 1918. Nr. 41. — 9) Bieling, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 25. H. 5; Ders. und Joseph, ebenda. Bd. 29. H. 3, 4. — 10) Vgl. Friedberger u. Konitzer, Med. Klin. 1919. Nr. 5.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Aetiologie der Aktinomykose.

Von R. Klinger, Zürich.

In der einschlägigen Literatur findet sich noch vielfach die Ansicht, daß bei der menschlichen Aktinomykose meist pflanzliche Vehikel die Infektionserreger mitbringen; namentlich soll das Kauen oder Verschlucken von Grashalmen, ferner das Liegen auf Stroh häufig der Anlaß zu einer Strahlpilzerkrankung werden. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit<sup>1)</sup>, die sich mit der Aetiologie einer größeren Zahl von Aktinomykosefällen befaßt, kam W. Odermatt sogar zu der Ansicht, daß die Aktinomykose als eine Berufskrankheit des Soldaten bezeichnet werden müßte (wegen der häufigen Verwendung von Stroh für die Soldatennachtlager), und daß derartige Erkrankungen daher unter Umständen von der Militärversicherung zu entschädigen seien! Diese Auffassung

1) Schweiz. med. Wochenschr. 1920. Nr. 2.

ist wenigstens für unsere Gegenden gewiß unzutreffend, und zwar aus folgenden Gründen:

In den bei uns vorkommenden Fällen von Aktinomykose finden sich die aëroben, von verschiedenen Autoren auf Gräsern, in Strohaufgüssen etc. gefundenen *Actinomyces*-Arten so gut wie nie. In den zahlreichen (über 30) Fällen, welche ich im Laufe der letzten 10 Jahre untersucht habe, habe ich stets nur die anaërob wachsende Art gefunden. Diese Stämme entwickeln sich, sofern sie überhaupt angehen, in den meisten Nährböden nur bei Temperaturen über 30° und gehen, wenn nicht besondere Sorgfalt auf ihre Ueberimpfung verwendet wird, in der Regel bald wieder ein, nur ganz vereinzelt traf ich Stämme, die unter aëroben Bedingungen, z. B. auf Schrägagar, ein spärliches, in die Tiefe gerichtetes Wachstum zeigten. Nicht unwichtig ist ferner, daß sehr häufig Mischinfektionen angetroffen werden, unter welchen neben Aëroben meist auch anaërobe, nur bei Körpertemperatur wachsende Arten vorkommen. (Näheres siehe meine frühere Mitteilung, Bd. 62. S. 191.) Es ist ganz unwahrscheinlich, daß alle diese Mikroorganismen und speziell diese Aktinomyzeten sich im Freien auf Gräsern, Holz u. dgl. entwickeln und vermehren können. Wir haben es hier vielmehr mit Arten zu tun, die augenscheinlich an Symbiose mit dem Warmblüterorganismus angepaßt und angewiesen sind und die mit den in der Außenwelt vorkommenden, weit anspruchsloseren, aëroben Saprophyten so gut wie nichts gemein haben.

Wie kommt nun die Infektion mit *Actinomyces* zustande? Wir werden wohl nicht fehlgehen, wenn wir die Mundhöhle, speziell gewisse, unter anaëroben Bedingungen stehende Teile derselben, wie kariöse Zähne, Zahnfleischtaschen etc. als den gewöhnlichen Aufenthaltsort dieser Krankheitserreger betrachten, von wo aus sie durch Verletzungen oder mit Hilfe anderer Keime, meist auf dem Boden einer schon bestehenden oder sich ausbildenden entzündlichen Reaktion, tiefer eindringen. Mit dem Speichel können sie auch durch den Verdauungskanal oder äußerlich auf andere Körpergegenden übertragen werden und hier zur Infektion führen. Auffallend ist jedenfalls, daß die große Mehrzahl aller Aktinomykosen in der Nähe der Mundhöhle sitzen (Hals-, Kiefer-, Wangenregion)<sup>1)</sup>. Auch bei den in der Thorax- oder Bauchgegend lokalisierten Aktinomykosen fällt es meist leicht, Beziehungen zur Mund- oder Darmflora zu finden (Pleuraempyeme, Appendicitis u. ä.). Ebenso auffallend ist die von verschiedenen Autoren gemachte Feststellung, daß bei den an Aktinomykose Erkrankten kariöse Zähne meist in größerer Anzahl gefunden werden, und daß der Prozeß gar nicht selten im Anschluß an Zahnoperationen seinen Anfang nimmt. Das relativ häufige Vorkommen von Aktinomykose in der Ostschweiz im Vergleich zu anderen Ländern dürfte mit der außerordentlich starken Verbreitung der Zahnkaries in unserer Gegend zusammenhängen. Den oben angeführten Eigenheiten des Erregers und seines Vorkommens gegenüber scheint die Zurückführung aller *Actinomyces*-Erkrankungen auf irgendeine Infektion mit Heu oder Stroh sehr gekünstelt, wenn auch in den meisten Fällen leicht erzielbar, da ja derartige Vegetabilien (auch Holzsplitter genügen) so verbreitet sind, daß es kaum möglich ist, einen Menschen zu finden, der nicht mit ihnen in häufige Berührung käme. Auch die in aktinomykotischen Herden hie und da gefundenen Halme, Granen etc. sind kein Beweis für die ätiologische Bedeutung

1) S. u. a. F. Kazda, Deutsch. Zeitschr. f. Chir. 156 (27 Fälle).

dieser Fremdkörper; dagegen spricht schon der Umstand, daß derartige Beobachtungen gegenüber den so viel zahlreicheren Fällen zurücktreten, wo solche vegetabilische Einschlüsse nicht nachweisbar sind.

Zu ganz übereinstimmenden Ansichten ist vor kurzem auch L. Colebrook gelangt<sup>1)</sup>, welcher 17 Fälle von menschlicher Aktinomykose genau bakteriologisch untersucht hat. Auch in dieser Arbeit wird festgestellt, daß beim Menschen so gut wie immer der anaërobe Typus von *Actinomyces* angetroffen wird, sehr oft mit anderen Mikroorganismen (*Bact. actinomycem comitans*) vergesellschaftet. Auch dieser Autor lehnt die „landläufige Hypothese“, wonach diese Erreger durch vegetabilische Vehikel übertragen werden, ab und äußert ebenfalls die Vermutung, daß es sich bei dem menschenpathogenen *Actinomyces*-Pilz um einen gewöhnlichen Bewohner des Verdauungstraktes handle. In einer vor Kurzem erschienenen Mitteilung, in welcher C. Harms einen Fall von Aktinomykose beschreibt, in welchem er ein „Stück pflanzlichen Gewebes“ gefunden hat (München. med. Wochenschr. 1920. S. 903), glaubt der Autor, das so sehr seltene Vorkommen von solchen Einschlüssen bei der menschlichen Aktinomykose dadurch erklären zu müssen, daß dieselben allmählich aufgelöst und daher nur in frischen Fällen angetroffen werden! Ein typisches Beispiel dafür, wie sehr man noch unter dem Banne der ektogenen Entstehung dieser Infektion steht; wurden freilich bakteriologische Untersuchungen etwas öfter vorgenommen (auch Harms hat eine solche anscheinend ganz unterlassen!), so würde diese Hypothese wohl bald verlassen werden.

*Nachdruck verboten.*

## Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa.

### IV. Mitteilung.

#### Beitrag zur Kenntnis der Heilung der Wut<sup>2)</sup>.

[Aus dem Institut für allgem. Pathologie und Therapie der Universität  
Klausenburg (Direktor: Prof. v. Lőte).]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Adjunkten am Institut.

In meinen früheren<sup>3)</sup> diesbezüglichen Mitteilungen konnte ich in 9 Untersuchungsserien nachweisen, daß die Lyssaimmunität vererbbar ist; daß bei dieser Immunität dem Vater keine Rolle zukommt. Nur die Mutter ist imstande, die Immunität zu übertragen, und zwar nicht nur dann, wenn ihre Immunisierung während der Schwangerschaft vollführt wurde, sondern auch, wenn sie vor der Konzeption immunisiert worden war. Ferner wies ich nach, daß in dieser Vererbung die Nachkommen individuelle Verschiedenheiten zeigen; manche vererben dieselbe, andere nicht; daß diese Vererbung nur bis zur I. Generation geschieht, in den Enkeln ganz verschwunden ist, und daß diese Immunität viel länger dauert, als dies bis jetzt nach den Untersuchungen von Ehrlich und seinen Nachfolgern angenommen wird.

Nach den Erfahrungen der 3. Mitteilung<sup>4)</sup> dauerte die Lyssaimmunität 1 Jahr 8 Monate und 25 Tage. Ich teilte schon dort mit, daß weitere Untersuchungen im Gange sind. Ueber diese soll hier berichtet werden.

1) Brit. Journ. of exper. Path. I. 1920. No. 4.

2) Diese Mitteilung sollte Ende 1918 erscheinen, konnte aber wegen den Kriegseignissen nicht expediert werden.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46; Bd. 52 u. Bd. 79.

4) Dieses Centralbl. Bd. 79.

## X. Untersuchungsserie.

Am 27. Okt. 1914 wurde eine 7,7 kg schwere Hündin derart immunisiert, daß sie eine Emulsion aus 24 g Mark subkutan erhielt. Das Virus wurde 5 Tage lang in Karbol-Glyzerin (50 Glyzerin + 50 physiol. Kochsalzlösung + 3 Tropfen Karbol) gehalten. Die Virulenz dieses Virus wurde durch Tierexperiment geprüft: 1 Kaninchen ging nach 10, 1 Meer-schweinchen nach 9 Tagen an typischer Wut ein. Die Hündin hatte aber dieses Virus gut vertragen, hingegen erlag ein anderer Hund, welcher aus demselben Virus die gleiche Quantität erhielt, nach 15 Tagen an der Wut.

Diese Hündin warf am 4. April 1915, also am 160. Tage nach der Einspritzung, 4 Junge.

Interessant war es, daß diese Jungen im Alter von 14, 17, 30 resp. 34 Tagen an Wut zugrunde gingen, wie überdies schon berichtet wurde<sup>1)</sup>. Es kreiste also das Wutvirus 160 Tage lang im Blute der Mutter, passierte in die Jungen, die Mutter blieb aber am Leben. wurde auch zum 2. Male trächtig und warf am 2. April 1916 5 Junge, von denen 2 infolge eines Unfalles eingingen, 1 entwich und verschwand, und so blieben nur 2, welche im Alter von 2 Jahren 2 Monaten und 16 Tagen am 18. Juni 1918 mit Straßenvirus infiziert wurden. Dieses Virus tötete das subdural inokulierte Kaninchen binnen 18 Tagen. Aus der dichten Emulsion bekamen die Jungen je 2 ccm tief in die Muskulatur an beiden Seiten der Wirbelsäule. Das 1. Tier (Weibchen) ist am 13. Juli, 25 Tage nach der Probeinfektion, krank und erlag innerhalb 3 Tagen an typischer Wut. Bei ihrer Sektion fanden wir 5 ganz junge Embryonen und sowohl im Mutter-, als im Embryumgehirn Negrische Körperchen. Die weitere Untersuchung wurde unterlassen, da die während 12 Jahren in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen die definitive Tatsache ergaben, daß das Wutvirus in jedem Falle von der Mutter auf den Fötus übergeht.

Das 2. Junge ist am 15. Tage nach der Probeinfektion krank: das Gehen ist unsicher, es schwankt hin und her, am 17. Tage fällt es auf die Seite, frißt nicht. Dieser Zustand dauerte 10 Tage lang, indem es stark abgenommen hatte. Nachher raffte es sich langsam auf, fraß, trank, erhob sich mühsam, schleppte aber noch nach 6 Wochen die hintere Hälfte, erholte sich dennoch ganz und ist bei der Zusammenstellung dieser Zeilen, Ende Dezember 1918, ganz gesund.

Wir sehen also, daß die angeborene Immunität nach 2 Jahren 2 Monaten und 16 Tagen noch besteht, aber schon nicht ganz komplett ist, denn sie kann den Ausbruch der Wut nicht verhindern, die Krankheit heilt jedoch aus. Um diese Zeit scheint die Grenze der angeborenen Immunität zu sein, da beide Nachkommen an Wut erkranken, der eine genas, der andere ging daran zugrunde. Wir sehen aber zugleich, daß diese Immunität viel länger ist, als dies durch Ehrlich und seine Nachfolger als sicher erwiesen angenommen wird. Es kann also das sogenannte „Ehrlichsche Gesetz“ (loi d'Ehrlich) nicht mehr aufrecht erhalten werden.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79.

Diese Beobachtung bildet aber einen interessanten Beitrag zur Kenntnis der spontanen Heilung bei der Wut. „Diese Frage ist“ — wie dies Josef Koch<sup>1)</sup> in seiner neuen Monographie sehr richtig betont — „nicht nur vom theoretischen Standpunkt, sondern auch in praktischer Hinsicht von Wichtigkeit. Trotzdem bereits Pasteur die Tatsache konstatiert hat (Sitz. d. Akad. v. 11. Dez. 1882), daß Hunde an Wut erkranken und genesen können, besteht in der Literatur eine merkwürdige Uebereinstimmung der Ansichten in der Frage der Unheilbarkeit der Wutkrankheit.“ Gerade aus diesem Grunde halte ich es für notwendig, die in Heilung übergegangenen Fälle sowohl aus unserem Material, als auch aus der Literatur zu sammeln, denn es wäre auch nach Koch ganz auffällig, daß die Lyssa demnach die einzige Infektionskrankheit wäre, wo Heilung nicht vorkäme.

Im Institut für allgemeine Pathologie und Therapie der Universität Klausenburg wurde der 1. Fall 1903 beobachtet. Der mit fixem Virus subdural infizierte Hund erkrankte unter allen typischen Symptomen der Wut, heilte aber nach einer Krankheitsdauer von 12 Tagen aus.

2) Der am 26. Febr. 1906 ebenfalls mit fixem Virus subdural inokulierte Hund genas nach einer Krankheitsdauer von 14 Tagen.

3) Am 13. April 1907 wurde ein Kaninchen mit Straßenvirus subdural infiziert. Die typischen Wutsymptome erschienen am 25. Tage. Genesung nach einer Krankheitsdauer von 10 Tagen.

4) Der am 7. Mai 1907 mit Straßenvirus subdural infizierte Hund erkrankte unter den typischen Wutsymptomen, genas aber nach einer Krankheitsdauer von 2 Tagen.

5) Am 18. Nov. 1907 wurde ein Hund in die Rückenmuskulatur an beiden Seiten der Wirbelsäule mit Straßenvirus infiziert. Heilung der ausgebrochenen Wut nach 11 Tagen.

6) Der am 22. Mai 1908 mit Straßenvirus in die Rückenmuskulatur infizierte, 4300 g schwere junge Hund genas nach einer Krankheitsdauer von 8 Tagen.

7) Am 12. Juli 1909 wurde ein Hund mit Straßenvirus subdural infiziert. Genesung nach einer Krankheitsdauer von 4 Tagen<sup>2)</sup>.

Der 8. Fall ist der jetzige.

Nach Högyes<sup>3)</sup> heilten von den wutkrank gewordenen 159 Hunden 13, nach Josef Koch<sup>4)</sup> kam unter ca. 40 Hunden in 3 Fällen Heilung vor. Von 6 mit demselben Straßenvirus intramuskulär infizierten Hunden erkrankten 4, die später dauernd gesund blieben, in einer anderen Serie beobachtete Koch, daß von den 6 mit demselben Straßenvirus geimpften Tieren die Hälfte genas, und bemerkt zugleich, daß bei Infektionen mit Virus fixe derartige Heilungen bei Hunden noch öfter vorkommen. Von Interesse ist die Beobachtung von Remlinger<sup>5)</sup>, der den Speichel eines wutkranken, aber genesenen Hundes 5 Tage nach vollständiger Heilung für Meerschweinchen noch virulent fand. Menezier<sup>6)</sup> konnte mit dem Speichel eines wutkranken, aber genesenen Hundes einen anderen Hund und ein Kaninchen erfolgreich infizieren. Dammann und Hasenkamp<sup>7)</sup> ließen durch einen Hund, als er die ersten Wutsymptome zeigte, eine Katze beißen, und mit dem Speichel infizierten sie 2 Kaninchen. Die Katze blieb gesund, das eine Kaninchen ging an Lyssa zugrunde, der Hund jedoch genas.

In all diesen Fällen handelt es sich um Beobachtungen an Säugetieren, es kommen aber nach Gibier<sup>8)</sup>, Kraus und Clairmont<sup>9)</sup> und neuestens nach v. Löte<sup>10)</sup> bei Geflügel solche Heilungen noch öfters vor.

Es ereignen sich aber solche spontane Heilungen auch beim Menschen. Die ältesten diesbezüglichen Daten sind bei Gamaleia<sup>11)</sup> registriert. Einen solchen Fall haben auch Lobell und Vesesco<sup>12)</sup> in Jassy beobachtet. Bei einem Kinde erschienen nach einer schweren Verletzung durch Hundebiß die typischen Symptome der mensch-

1) Kolle-Wassermann, Handbuch. 2. Aufl. Bd. 8. 1913.

2) Es sei bemerkt, daß in diesen Fällen weder von einer erworbenen, noch von einer angeborenen Immunität eine Rede ist.

3) Lyssa von Högyes.

4—8) In Kochs Lyssa. Kolle-Wassermann, Handb. Bd. 8.

9) Zeitschr. f. Hyg. 1900.

10) Annal. Pasteur. 1887.

11) Annal. Pasteur. 1895.

12) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35.



lichen Wut. Es trat aber nach einer Krankheitsdauer von 9 Tagen vollständige Heilung ein. Die Zahl solcher Fälle wird noch größer, wenn wir nach der Meinung J. Kochs alle diejenigen Fälle, welche während oder kurz nach der Schutzimpfung sich in stürmisch entwickelnden, schweren spinalen Paraplegien, Anfällen von Tobsucht, tonischen Krämpfen, starker Speichelsekretion usw. auszeichnen und welche durch J. Koch als „abortive Wut“ angesehen werden. Solcher Fälle hat Remlinger<sup>1)</sup> aus der Weltliteratur 40, Simon<sup>2)</sup> 88 gesammelt.

Nach diesen Beobachtungen kann also die Wut auch beim Menschen heilen.

Es drängt sich nach dem Angeführten die Frage auf: Könnte man die ausgebrochene Wut nicht behandeln? Diesen Gedanken hat zuerst v. Hógyes<sup>3)</sup> ausgesprochen, als er in seiner Monographie sagt: „Es ist nicht unmöglich, daß nach ausdauerndem und vielem Experimentieren einstens doch gelingen wird, den heute noch bezweifelten Satz aufstellen zu können: die ausgebrochene Wut ist heilbar.“ Diese Hoffnung scheint in den Beobachtungen von Tizzoni und Bongiovanni<sup>4)</sup> eine Stütze zu finden. Diese Autoren konnten nachweisen, daß 100000 R.E. Radiumstrahlen imstande sind, das Kaninchen von der ausgebrochenen Wut zu heilen, wenn die Wirkung dieser Strahlen 8 Stunden hindurch wirkt, und meinen, daß zur Erreichung dieser Wirkung beim Menschen 5 Millionen R.E. nötig wären. In dieser Richtung wollen wir im neuerbauten und vor Eröffnung stehenden Pasteur-Institut zu Kolozsvár weiterforschen und auch das Jod nach den Erfolgen J. Kochs<sup>5)</sup> ausprobieren, nach dessen Gebrauche J. Koch bei der abortiven Wut so schöne Resultate sah.

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen über Schweinerotlauf beim Menschen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Prof. Dr. Carl Prausnitz.

Nicht ganz selten sind in den letzten Jahren Schweinerotlauf-erkrankungen beim Menschen beobachtet worden (in den letzten 20 Jahren über 100 Fälle). Die Mehrzahl dieser Erkrankungen war örtlich begrenzt, meist auf die obere Extremität beschränkt, da es sich um Verletzungen von Tierärzten, Schlächtern usw. handelte. Nur vereinzelte Allgemeininfektionen sind beschrieben worden, die sich aber ebenfalls an Infektionen der oberen Extremität anschlossen. Da das Aussehen der Rotlaufbazillen sehr charakteristisch, ihre Isolierung und Identifizierung sehr einfach ist, sollte man zunächst annehmen, daß die Zahl der festgestellten Fälle der Gesamtzahl der Erkrankungen einigermaßen nahekommen müßte. Indessen sind die Fälle wohl klinisch nicht immer ganz leicht zu diagnostizieren, viele verlaufen atypisch oder so leicht

1) Annal. Pasteur. 1905.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68.

3) Lyssa. 1897.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40 u. 42.

5) Deutsche med. Wochenschr. 1913.

und rasch, daß sie unerkant bleiben; und vor allem wird die bakteriologische Wunduntersuchung noch lange nicht überall mit der erforderlichen Regelmäßigkeit geübt. Daher wird sicher eine erhebliche Zahl von Fällen unerkant bleiben. Wo aber regelmäßig an diese Möglichkeit gedacht wird, findet man den Rotlauf des Menschen häufiger.

In den letzten Jahren sind, besonders in der tierärztlichen Literatur, zahlreiche solche Erkrankungen beschrieben worden, so von Casper, Gerdes, Gleich, Günther, Heymann, Hildebrand, Krieger, Mayer, Natusch, Rahm, Römer, Rosenbach, Voss, Welzel, in den Nevermannschen Jahresberichten der beamteten Tierärzte Preußens, im Gesundheitswesen des preußischen Staates, usw. Die Mehrzahl der Fälle ist bei Personen vorgekommen, die durch ihren Beruf in unmittelbare Berührung mit dem infektiösen Material (Fleisch kranker Tiere oder Bazillenimpfstoff) gekommen waren, und vielfach sich an der Hand, z. B. bei der Sektion, verletzt hatten. In Breslau wird, seitdem ein typischer Fall aus der Chirurgischen Universitätsklinik von Rahm beschrieben worden ist, dieser Frage besonderes Interesse entgegengebracht und von jedem irgendwie verdächtigen Falle Material dem Hygienischen Institut eingesandt. Im letzten Jahre sind hier 4 Fälle vorgekommen, von denen 3 nur lokale Entzündungen betrafen.

Der vierte, von Mendel in der Universitäts-Kinderklinik beobachtete Fall<sup>1)</sup>, bot durch sein klinisches Verhalten besonderes Interesse. Ein 10-jähriges Mädchen, das an einem kongenitalen Herzfehler (wahrscheinlich offenem Ductus Botalli) litt, erkrankte akut fieberhaft; nach einigen Tagen traten an verschiedenen Körperstellen eigenartige, leicht erhabene Erythemruptionen auf; daran schlossen sich Gelenkschmerzen. Das Fieber blieb dauernd hoch, und es entwickelte sich das Bild einer chronischen Sepsis, die anscheinend mit Endokarditis kompliziert war; das Kind ist nach etwa 6 Monaten gestorben. Die Sektion konnte nicht ausgeführt werden.

Im Verlauf der Krankheit wurde wiederholt aus dem Blute ein Bazillus in Reinkultur gezüchtet, der hier als Schweinerotlaufbazillus identifiziert wurde. Die Zahl der Keime betrug, wenn die Blutentnahme auf der Fieberhöhe gemacht wurde, mindestens 1 im Kubikzentimeter. Die aus der Blutbouillon gezüchteten Bazillen waren zarte, unbewegliche, leicht färbbare, grampositive Stäbchen, die auf Agar und Aszitesagar in sehr feinen Kolonien, in der Gelatine in feinem Stichkanal mit mäßig zahlreichen seitlichen, strahlenförmigen Ausläufern wuchsen.

Zur serologischen Untersuchung der Kultur standen das Serum des Landsberger Instituts und das Höchster Immunserum zur Verfügung. Zum Vergleich mit unserer Kultur diente der dem Landsberger Serum homologe Stamm, den wir ebenso wie das Serum der Liebenswürdigkeit dieses Institutes verdanken.

#### Agglutinationsprüfung.

	Gegen S.R.-Baz. Landsberg	Gegen den Patientenstamm
S.R.-Serum Landsberg	1:12 800 + 1:25 600 0	1:1600 + 1:3200 0
S.R.-Serum Höchst	1: 6 400 + 1:12 800 0	1:400 + 1:800 (+)
Norm.-Pferdeserum	1:25 0	1:25 0
Patientinnenserum	1:400 + 1:800 0	1:800 + 1:1600 0

Die mit dem Serum des Patienten in der 9. Krankheitswoche angestellte Widal'sche Reaktion gegen Schweinerotlaufbazillen ergab:

	Gegen S.R.-Baz. Landsberg	Gegen den Patientenstamm
Patientinnenserum	1:400 + 1:800 0	1:800 + 1:1600 0

1) Herr Prof. Dr. Stolte hatte die große Liebenswürdigkeit, uns die ausführliche Krankengeschichte zur Verfügung zu stellen.

Der Tierversuch ergab: Eine weiße Maus erhielt  $\frac{1}{4}$  Oese 24-stünd. Agarkultur des Patientinnenstammes subkutan und starb am 3. Tage: in allen Organen und im Herzblut waren Rotlaufbazillen reichlich im mikroskopischen Präparat und in der Kultur nachweisbar. Eine zweite, gleich große weiße Maus erhielt ebenfalls  $\frac{1}{4}$  Oese der gleichen Kultur, aber gemischt mit 0,1 cem Landsberg. Sie wurde am 5. Tag tot aufgefunden. Die Organe und das Herzblut waren mikroskopisch und kulturell steril. Wahrscheinlich war das Tier subakut der Infektion erlegen; immerhin zeigte sich hier eine gewisse Schutzwirkung des Serums. Weitere Versuche konnten wegen hochgradigen Tiermangels nicht ausgeführt werden.

Wenn auch der letzte Versuch nicht beweisend ist, so ergibt sich doch aus den Agglutinationsversuchen eine weitgehende Uebereinstimmung zwischen dem echten Schweinerotlaufstamm und der Kultur aus dem Venenblut der Pat. Die gefundenen Unterschiede sind wohl ungezwungen durch die Annahme zu erklären, daß der menschliche Stamm durch den mindestens 2-monatigen Aufenthalt im menschlichen Körper eine Anpassung an diesen Organismus und eine leichte Abwandlung seiner ursprünglich vielleicht vorhandenen höheren Beeinflußbarkeit durch das tierische Rotlaufserum erfahren, gleichzeitig aber eine höhere spezifische Agglutinierbarkeit durch das menschliche homologe Serum erworben hatte (vgl. Rickmann).

So viel folgt jedenfalls auf der anderen Seite aus dem Protokoll, daß von einer ausgesprochenen Serumfestigkeit der Kultur nicht die Rede war. Es bestand daher die Hoffnung, das Kind noch durch Serum zu retten. Leider gelang dies nicht: die an 2 aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführte intramuskuläre Injektion von zusammen 150 cem Höchster Serum blieb auf das Krankheitsbild ohne jeden Einfluß. Wir haben hier ein Gegenstück zu dem vielfach beobachteten völligen Versagen des Streptokokkenserums beim Menschen, obwohl es bei der Titrierung im Tierversuch sich als hochwirksam erwiesen hat. Das Versagen des Serums steht in auffallendem Widerspruch zu seiner guten Wirksamkeit im Tier und zu der von vielen Autoren, wie Gerdes, Günther, Heymann, Nevermann, Rosenbach, Voss, Welzel übereinstimmend berichteten ausgezeichneten Heilwirkung auf lokale menschliche Erkrankungen. Vielleicht liegen hier nur quantitative Unterschiede vor, indem ein so ungünstiger Fall, in dem sich wahrscheinlich bereits eine Endokarditis ausgebildet hatte, und dessen Körper mit ungeheuren Bazillenmengen überschwemmt war, der außerdem mit einem schweren Herzfehler kompliziert war, den Schutzstoffen des Serums weniger Gelegenheit zum Angriff der Bakterien bot als die bisher beschriebenen Fälle mit Serum behandelten menschlichen Schweinerotlaufs, die alle lokal begrenzt, also an sich prognostisch verhältnismäßig günstig waren. Ehe der gerade beim Schweinerotlauf so komplizierte Mechanismus der Serumwirkung nicht besser aufgeklärt ist, wird man nicht hoffen können, sich über solche Versager ein klares Bild zu machen.

Die im weiteren Verlauf der Krankheit ausgeführten Versuche mit verschiedenen Chemotherapeutica (kolloid. Silber, Optochin, Trypaflavin) und mit Normalmensenbluttransfusionen blieben ebenfalls wirkungslos auf die Bakteriämie und auf das klinische Bild.

Auch der Infektionsweg ist in diesem seltsamen Fall nicht aufgeklärt worden. Während beim Schwein der Darmkanal die Eintrittspforte der Schweinerotlaufbazillen bilden dürfte, sind in allen bisher beschriebenen Fällen der menschlichen Erkrankung die Bazillen von der Haut, meist durch eine Wunde eingedrungen. Bei diesem Kinde fehlte

eine solche ausgesprochene lokale Infektion. Es muß dahingestellt bleiben, ob eine der erythematösen Stellen, die besonders stark blaurot verfärbt war, als solche aufgefaßt werden könnte. Dagegen scheint mir aber die Lokalisation (am Rücken) zu sprechen. Ein Jahr vor seiner Erkrankung war das Kind zum Ferienaufenthalt auf einem Gute gewesen, wo die Schweine am Rotlauf erkrankt waren. Aber ob hier ein Zusammenhang zu konstruieren sein kann, scheint doch recht fraglich.

Eher wäre wohl hier an die Möglichkeit zu denken, daß eine orale oder intestinale Infektion ausnahmsweise vorgelegen hätte. Durch neuere Arbeiten, so von Bauermeister, Broll, Olt, Poels, Pfeiler ist es sichergestellt, daß die Rotlaufbazillen sehr häufig auf den Mandeln und im Darmkanal anscheinend gesunder Schweine und nicht selten bei Erkrankungen von Rindern, Schafen, Geflügel vorkommen. Pfeiler u. A. haben Bazillen vom Typus des Rotlaufbazillus, zuweilen auch hochvirulente, häufig aus den faulen Organen anscheinend gesunder oder an anderen Krankheiten eingegangener Tiere (Meerschweinchen, Hühner, Puten, Enten, Tauben) gezüchtet. Hier dürfte es sich wohl um postmortale Einwanderung vom Darmkanal gehandelt haben, da frisch nach dem Tode untersuchtes Material sich regelmäßig frei von den Bazillen erwies. Es kann daher nicht zweifelhaft sein, daß die Schweinerotlaufbazillen in der Umwelt sehr weit verbreitet sind. Ihre außergewöhnlich hohe Widerstandsfähigkeit gegen Pökeln, Räuchern und gegen Fäulnis ist bekannt. Daher ist unter den jetzigen Verhältnissen, wo nur ein sehr beschränkter Teil des genossenen Fleisches einer geordneten Fleischschau unterworfen wird, die Infektionsgefahr durch den Fleischgenuß wohl besonders groß. Für das Zustandekommen des vorliegenden Falles könnte möglicherweise der schwere Herzfehler und die dadurch zweifellos bedingte geringere Kampfkraft des Kindes gegen bakterielle Invasionen eine gewisse Rolle gespielt haben.

#### Literatur.

Bauermeister, Inaug.-Diss. Bern. 1901. — Broll, Berlin. tierärztl. Wochenschrift. 1911. S. 41. — Casper, Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1899. S. 445. — Gerdes, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1914. S. 216. — Gesundheitswes. d. preuß. Staat. 1912; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 60. 1914. S. 390. — Gleich, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. S. 576. — Günther, G., Ebenda, 1912. S. 561; Wien. klin. Wochenschr. 1912. S. 1318. — Heymann, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1910. S. 112. — Hillebrand, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1899. S. 544. — Krieger, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1913. S. 289. — Mayer, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1899. S. 611. — Mayer, M., München. med. Wochenschr. 1908. S. 121. — Natusch, Vet.-med. Inaug.-Diss. Gießen 1910. — Neverman, Veröff. d. Jahresveterinärber. d. beamt. Tierärzte Preuß. 1901—1912; ref. u. a. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. 1912. S. 226; Bd. 59. 1912. S. 205; Bd. 61. 1914. S. 406. — Olt, Deutsch. tierärztl. Wochenschrift. 1901. S. 41. — Poels, Fol. microbiol. 1913. H. 1 (zit. nach Pfeiler). — Pfeiler, W., Arch. f. Hyg. Bd. 88. 1919. S. 199. — Rahm, Bruns Beitr. z. klin. Chir. Bd. 115. 1919. S. 664. — Rickmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. S. 362. — Römer, Mitt. d. Ver. bad. Tierärzte. 1908. S. 33; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. S. 476. — Rosenbach, F. J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. 1909. S. 343. — Schipp, Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1910. S. 97. — Voss, Med. Klin. 1912. S. 1910. — Welzel, A., München. med. Wochenschr. 1907. S. 2482.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der Geflügelpocken.

Von P. Uhlenhuth und P. Manteufel.

Wir hatten im Jahre 1910 auf Grund unserer und der unter Uhlenhuths Leitung von Carnwath angestellten Versuche in den Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt (1) unsere Stellungnahme in der Frage der Identität von Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken folgendermaßen zum Ausdruck gebracht: „Alles in allem muß man sich auf Grund des vorliegenden Tatsachenmaterials wohl auf den Standpunkt stellen, daß für die Geflügeldiphtherie in Deutschland bisher nur die ätiologische Bedeutung des Geflügelpockenvirus mit aller Sicherheit erwiesen ist.“ Dieser Auffassung wird in späteren Arbeiten von Bordet (2) widersprochen, der angibt, den von ihm und Fally gefundenen und gezüchteten Mikroben der Geflügeldiphtherie beim kontagiösen Epitheliom nicht gefunden zu haben, sowie von Haring und Kofoid (3), die bei pockenimmunen Hühnern keine Immunität gegen Geflügeldiphtherie feststellen konnten, und umgekehrt.

Alle übrigen uns bekannten Arbeiten von Schmid (4), Sigwart (5), v. Rátz (6) und v. Betegh (7) enthalten eine Bestätigung und Erweiterung unserer Befunde, und in den neuesten Auflagen der Handbücher von Prowazek (8), Hutyra und Marek (9), Fröhner und Zwick (10), sowie von Joest (11) wird ebenfalls unser Standpunkt vertreten, daß Geflügelpocken und Geflügeldiphtherie als Epizootie nur verschiedene Erscheinungsformen der gleichen Seuche sind. Auch neuerdings hat van Heelsbergen (12) bei Untersuchungen in Holland eine von den Geflügelpocken wesensverschiedene Diphtherie nicht nachweisen können und kommt zu dem Schluß, „daß das vielfältige Vorkommen dieser Krankheitsform in verschiedenen Ländern einen derartigen Eindruck macht, daß man anfangen könnte, an der Existenz einer echten Geflügeldiphtherie mit einem eigenen spezifischen Virus zu zweifeln“. Nur an der Methodik der Beweisführung, die wir in Ergänzung der Befunde von Carnwath (13) empfohlen haben, scheinen bei van Heelsbergen noch Zweifel zu bestehen. Die von uns angewandte Untersuchungsmethode besteht darin, daß man zur Entscheidung der Frage, ob diphtherische Krankheitserscheinungen beim Geflügel durch das Geflügelpockenvirus bedingt sind, das fragliche Material unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen in den skarifizierten Kamm von gesunden Versuchshühnern einreibt; entstehen dann längs der Impfstiche Pocken, dann ist der Beweis im positiven Sinne geliefert. Heelsbergen stellt es so dar, als ob wir damit allgemein die Identität von Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken bewiesen zu haben glaubten, und meint, daß diese Beweisführung auf schwachen Füßen stünde; der Versuch beweise vielmehr im Grunde nur, und darin pflichten wir ihm durchaus bei, daß es sich in dem betreffenden Falle nicht um echte Geflügeldiphtherie gehandelt habe, sondern um Schleimhauterscheinungen der Geflügelpocke. Tatsächlich haben wir aber eine so weitgehende Schlußfolgerung damals nicht gezogen, sondern im Gegenteil die Möglichkeit des Vorkommens einer wesensverschiedenen Geflügeldiphtherie, die nicht als Pocke auf

den Kamm zu übertragen ist, immer noch offen gelassen. Wir hatten damals, da uns und Carnwath die Ueberimpfung des diphtherischen Materials auf den Kamm in allen Fällen gelang, gesagt, „daß man eine Klärung der Frage, ob noch eine weitere seuchenhafte Geflügeldiphtherie vorkommt, die mit dem Epithelioma contagiosum nichts gemein hat, nur dadurch erreichen kann, daß man das Material solcher Diphtheriefälle auf den Kamm von gesunden Hühnern verimpft“. Daß nun ein solcher Beweis natürlich nicht durch einzelne negative Impfresultate zu erbringen ist, ist eigentlich selbstverständlich; nur eine große Anzahl negativer Ergebnisse aus verschiedenen größeren Seuchenherden würde allenfalls dafür sprechen, daß es doch wohl noch eine wesensverschiedene seuchenhafte Hühnerdiphtherie gibt.

Aus den seit dieser Zeit veröffentlichten Versuchen von Schmid, Sigwart und van Heelsbergen selbst geht denn auch hervor, daß einzelne negative Impferfolge durchaus nicht ohne weiteres als Beweis für das Vorliegen einer echten Diphtherie anzusehen sind. Auch in solchen Fällen ließ sich auf anderem Wege das Vorliegen von Geflügelpocken erweisen.

Vergegenwärtigen wir uns zunächst die Fehlerquellen, die das Gelingen einer experimentellen Infektion mit Schleimhautmaterial auf den Kamm verhindern können. Erstens kann es an der Impftechnik liegen. Auf die Möglichkeit dieser Fehlerquelle bei den ersten Versuchen von Schmid hat Zwick (14), unter dessen Leitung die Arbeit ausgeführt ist, in einer Diskussionsbemerkung zu unserem Vortrage bereits hingewiesen. Auch wir haben in unserer Arbeit auf diesen Punkt aufmerksam gemacht und empfohlen, einerseits das Virus durch Verreiben mit physiologischer Kochsalzlösung oder 50-proz. Glycerin im Mörser gut aufzuschließen, andererseits blutende Verletzungen bei der Skarifikation des Kammes zu vermeiden und durch Einreiben mit einem Bausch unentfetteter Watte eine sichere Einverleibung des Virus zu gewährleisten. Ferner ist zu bedenken, daß gleichzeitige Verimpfung des Virus auf mehrere Stellen, z. B. auf den Kamm und Hals oder, wie es van Heelsbergen in dem am Eingange seiner Arbeit mitgeteilten Versuch getan hat, gleichzeitig parenteral und am Kamm, Fehlerquellen bedingen kann. Da die parenterale Behandlung Kamm- und Schleimhautimmunität erzeugt, könnte man sich vorstellen, daß der fortschreitende Immunisierungsprozeß die gleichzeitige Kamminfektion verzögert oder verhindert. Eine weitere Fehlerquelle anderer Natur liegt in der Beschaffenheit der Versuchshühner. Da bei der Epitheliomatose des Geflügels latente Fälle häufig vorkommen und unter Hinterlassung von mehr oder weniger kompletter Immunität ausheilen, ist es in Gegenden, wo die Seuche enzootisch auftritt, nicht leicht, immer geeignete Versuchshühner zur Hand zu haben. An diese Fehlerquelle für das Versagen der Uebertragung dürfte man bei dem Ausgangsversuch van Heelsbergens in erster Linie zu denken haben. Auch gibt es wohl gesunde Hühner, die von Haus aus eine gewisse Resistenz gegenüber dem Virus zeigen. Wir möchten daher empfehlen, stets mehrere Hühner für den Versuch zu nehmen und bei der Auswahl bezüglich ihrer Herkunft möglichst vorsichtig zu sein. Schließlich könnte die Ursache für das Nichtgelingen einer Kammimpfung auch in dem von Heelsbergen angeführten Umstande zu suchen sein, daß ein wenig virulentes Schleimhautmaterial bei der Impfung auf den Kamm nicht haftet. Auch Sigwart rechnet mit dieser Möglichkeit, und wenn wir selbst auch einen derartigen Fall nicht beobachtet haben, so müssen wir doch anerkennen, daß solche Fälle vorkommen können.

Namentlich aus den Protokollen von Sigwart scheint uns hervorzugehen, daß man in Fällen von subakuten diphtherischen Erscheinungen mit einer gewissen Abschwächung des Virus zu rechnen hat, so daß der Nachweis mittels Kammimpfung versagt. Van Heelsbergen schlägt deshalb vor, die von uns vorgeschlagene Methodik der Ueberimpfung verdächtiger diphtherischer Erscheinungen auf den Kamm dadurch zu ersetzen, daß man die Versuchshühner mit dem Untersuchungsmaterial nicht am Kamm, sondern parenteral impft und

später durch Kammimpfung mit einem sicheren Pockenvirus auf Immunität prüft. Die Möglichkeit einer Immunisierung durch intramuskuläre oder intravenöse Einspritzung von Pockenvirus ist auch von uns bereits nachgewiesen worden, ebenso die Möglichkeit, mit abgeschwächtem lebendem Virus gegen ein hochvirulentes zu immunisieren. Bei dieser parenteralen Vorbehandlung entstehen bisweilen diphtherische Erscheinungen auf den Schleimhäuten des Maules oder Auges, bisweilen, und zwar dann, wenn es sich um ein abgeschwächtes Virus handelt, bleibt jede örtliche Reaktion aus. Dieser Umstand bringt in die Heelsbergensche Versuchsanordnung offenbar einen unsicheren Faktor hinein, indem bei einer Immunitätsprüfung im positiven Sinne immer der Zweifel bestehen bleibt, ob die Immunität durch die Vorbehandlung mit dem zu prüfenden Material oder durch eine vorausgegangene natürliche Durchseuchung der Versuchshühner mit Pockenvirus zustande gekommen ist. Selbst wenn man über die Herkunft der Versuchshühner genau Bescheid weiß, dürfte es nicht leicht sein, diesen Zweifel ganz auszuschließen.

Man hat eine experimentelle Differentialdiagnose zwischen der hypothetischen „echten“ Geflügeldiphtherie und der diphtherischen Pockenviruserkrankung auch darauf aufzubauen versucht, daß bei der ersteren das Virus nicht im Blut nachzuweisen ist, während im letzteren Falle die Verimpfung von Blut auf den Kamm oder die Schleimhaut positiv ausfällt (Jowett 15). Auch diese Differenzierung läßt sich nach den neueren Arbeiten (Sigwart) grundsätzlich nicht mehr aufrecht erhalten: denn auch beim kontagiösen Epitheliom scheint das Virus nicht immer in nachweisbarer Menge im Blute zu kreisen. Die aus einer negativ verlaufenen Blutübertragung hergeleiteten Beweise für das Vorkommen einer primären Geflügeldiphtherie sind also ebensowenig stichhaltig wie die gleiche Schlußfolgerung aus dem Nichtgelingen der Uebertragung von Schleimhautmaterial auf den Kamm.

Alle bisher als Erreger der Geflügeldiphtherie beschriebenen Bakterien (s. Uhlenhuth u. Manteufel, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 33. S. 300) sind unserer Ansicht nach sicher nicht als Erreger der seuchenhaften Geflügeldiphtherie anzusprechen. Schon die große Zahl der verschiedenartigen beschriebenen Mikroorganismen spricht dafür, daß keiner als Erreger ernstlich in Betracht kommt. Sie sind vielmehr ebenso wie die gelegentlich gefundenen Influenza-, Hühnercholera- und Schweinerotlaufbazillen (Carnwath, Hausser etc.) als Begleitbakterien anzusehen. Bezüglich des eigenartigen winzigen Bordetschen Bazillus fragt es sich noch, ob er nicht mit den von Borrel-Lipschütz und anderen beschriebenen „Geflügelpockenkörperchen“ identisch ist.

Im ganzen ergeben die neueren Arbeiten eine umfassende Bestätigung unserer Befunde, daß bisher nur das Virus der Geflügelpocken als Ursache der seuchenhaften Geflügeldiphtherie in Mitteleuropa nachgewiesen ist.

Der eine von uns (M.) hatte inzwischen Gelegenheit, diese Tatsache auch bei der in Deutsch-Ostafrika enzootisch vorkommenden Geflügeldiphtherie mittels der Ueberimpfung auf den Kamm zu bestätigen. An dieser Methodik glauben wir auch weiterhin aus den oben erwähnten Gründen festhalten zu sollen. Da aber die Möglichkeit besteht, daß ein gewisser Prozentsatz der Fälle — namentlich chronische Formen, bei denen ein wenig virulentes Virus im Spiele ist — dabei dem

Nachweis entgeht, dürfte die van Heelsbergensche Technik eine willkommene Ergänzung bedeuten.

Die von van Heelsbergen beschriebene Abortivreaktion hat der eine von uns (M.) bereits genau beschrieben (16) und dabei auf die Parallele mit der vaccinalen Frühreaktion v. Pirquets hingewiesen. Auch Sigwart geht in seiner Arbeit auf diese Frage genauer ein und bestätigt den Befund. In der oben erwähnten Arbeit von Manteufel sind auch Abtötungsversuche mit Kaninchengalle mitgeteilt, die allerdings zu einem anderen Ergebnis geführt haben als die van Heelsbergens. Das Virus wurde auch bei lange dauernder Mischung mit Galle nur abgeschwächt: die Kammimpfungen mit der Virus-Gallemischung fielen regelmäßig positiv aus, während die parenterale Einverleibung im Gegensatz zu der Impfung mit unbehandeltem Virus keinerlei Erscheinungen mehr hervorzurufen vermochte. Da diese parenterale Virus-Galleimpfung in den meisten Fällen Immunität gegen eine Kammimpfung mit virulentem Pockenmaterial zur Folge hatte, wurde die Methode für die praktische Immunisierung in Vorschlag gebracht. Wir glauben demnach die allgemeine Gültigkeit der Angaben van Heelsbergens bezweifeln zu müssen, daß die Galle das Pockenvirus abtötet, ebenso wie wir daran zweifeln, daß eine praktisch brauchbare Immunisierung mit völlig abgetötetem virulentem Virus möglich ist. Auch bei der Vaccine liegen die Verhältnisse ganz ähnlich. Aus den Versuchen von Friedberger und Yamamoto (17) ergibt sich, daß die Galle keine bedeutende mikrobizide Wirkung auf das Vaccinevirus ausübt.

Zusammenfassend kann als Ergebnis der neueren Arbeiten folgendes festgestellt werden:

1) Unsere Feststellung, daß die seuchenhafte Geflügeldiphtherie nichts anderes ist als eine besondere Krankheitsform der Geflügelpocken, hat eine allgemeine Bestätigung erfahren.

2) Auch der Umstand, daß die Ueberimpfung von Schleimhautmaterial (Maul, Augenbindehaut) auf den Kamm von gesunden Versuchshühnern gelegentlich keine Pocken hervorruft, kann nicht ohne weiteres als Beweis für das Vorkommen einer originären, ätiologisch von den Pocken verschiedener Diphtherie angesehen werden. Ebensowenig ist der Beweis für das Vorliegen einer „echten“ Diphtherie dann als erbracht anzuziehen, wenn der experimentelle Nachweis des Virus im Blute oder in der Leber durch Verimpfung auf den Kamm nicht regelmäßig gelingt.

3) Das von uns empfohlene Verfahren der Verimpfung von Schleimhautmaterial auf den Kamm ist vorteilhaft dadurch zu vervollkommen, daß man eine Serie Hühner mit dem zu untersuchenden Material auf den Kamm, eine zweite Serie parenteral impft, und beide Serien Hühner mit einem sicheren Geflügelpockenvirus am Kamm auf Immunität prüft. Bei diesem Verfahren dürfte es dann gelingen, auch Erkrankungsformen mit wenig virulentem Virus dem experimentellen Nachweis zuzuführen.

Was die gekreuzten Immunisierungsversuche anlangt, auf Grund deren van Heelsbergen die nahe Verwandtschaft des Geflügelpocken- und Vaccinevirus beweisen zu können glaubt, so sind wir der Ansicht,



daß sie nicht so überzeugend und eindeutig ausgefallen sind, um alle Zweifel an der Richtigkeit der Schlußfolgerung zu beheben. Die zurzeit unerschwinglichen Preise für Hühner machen uns leider eine Nachprüfung dieser gewiß sehr interessanten Ergebnisse unmöglich.

Berlin-Dahlem, August 1920.

#### Literatur.

1) Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 33. 1910. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1909. Tagung d. fr. Ver. f. Mikrobiol. — 2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. — 3) Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. 1912. — 4) Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. — 5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. — 6) Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 62. 1914. — 7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. — 8) Lipschütz, im Handb. d. pathog. Protoz. Bd. 1. 1912. — 9) Spez. Pathol. u. Ther. d. Haust. 5. Aufl. 1920. — 10) Lehrb. d. spez. Pathol. u. Ther. d. Haust. 8. Aufl. 1919. — 11) Spez. pathol. Anat. d. Haust. 1. Aufl. 1919. — 12) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. — 13) Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 27. 1907. — 14) Tagung d. freien Ver. f. Mikrobiol. Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1909. — 15) Jowett, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1910. — 16) Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 33. 1910. — 17) Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 44. 1909.

*Nachdruck verboten.*

## Ein *Cysticercus* des Regenwurmes als Jugendform der Vogeltänie *Dilepis undula* (Schränk).

Von Prof. Dr. R. Vogel, Tübingen.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Gelegentlich eines zootomischen Anfängerkurses am Regenwurm (*Lumbricus terrestris* L.) machte mich ein Student auf in der Leibeshöhle eines Wurmes befindliche „Körnchen“ aufmerksam. Ich sah mir die Gebilde etwas genauer an und hatte gleich den Eindruck, daß es sich um Zystizerken handeln könne, was sich dann auch bei der mikroskopischen Prüfung bestätigte. Es wurden im ganzen 4 Zystizerken gefunden; 3 davon lagen frei in der Leibeshöhle eines Segmentes der mittleren Körperregion, ein 4., offenbar aus demselben Segment herausgefallener, lag neben diesem in der Präparierschale. Eine Durchsicht der einschlägigen Literatur ergab, daß der *Cysticercus* bisher unbekannt ist. Ich verfolgte die Angelegenheit daher weiter und schicke zunächst eine kurze Beschreibung des *Cysticercus* voraus.

Die Zystizerken waren alle von gleicher Form und gleichem Aussehen (s. Fig. 1a). Sie waren hyalin, hinter dem Einstülpungspol trübe-weißlich, regelmäßig eiförmig, etwa 0,85 mm lang und 0,60 mm breit. Die Einstülpung der Blasenwand ist sehr tief und reicht fast bis zum Gegenpol. Hierdurch und durch die ansehnliche Größe der weit vorgestülpten Bandwurmanlage wird das Blasenlumen stark reduziert und erscheint die Blase doppelwandig in der aus Fig. 1a ersichtlichen Weise. Am Grunde der Einstülpung erhebt sich, wie gesagt, die Bandwurmanlage mit vollständig ausgestreckten, bis zum Einstülpungspol reichenden Skolex. An den etwa 0,33 mm langen und etwa 0,50 mm breiten Skolex schließt sich ein ansehnliches „Zwischenstück“ an, das durch feine, ringförmige Einschnürungen in 8 schmale Abschnitte gesondert ist, in welchen sich u. a. kugelige Kalkkörperchen von 6–10  $\mu$  Durchmesser nachweisen lassen. Die Kopfbewaffnung ist die einer typischen *Taenia*. Die

kreuzweise gestellten Saugnäpfe haben einen inneren Durchmesser von etwa 0,1 mm. Das flach-kegelförmige Rostellum trägt einen wohlentwickelten, doppelten Hakenkranz mit je etwa 24 Haken. Die Form derselben ist aus der Fig. 1 b ersichtlich. Die Haken des vorderen Kranzes sind etwa 0,093—0,11 mm lang, die des hinteren 0,088—0,091 mm. Ihre größte Dicke beträgt etwa 0,014 mm, am inneren Wurzelfortsatz in seitlicher Ansicht gemessen.

Es erhob sich nun die Frage nach dem Endwirt des beschriebenen Cysticercus. Als solcher kamen natürlich nur Regenwürmer vertilgende Säugetiere und Vögel in Frage. Unter ersteren richtete sich mein Verdacht zunächst auf Maulwurf und Spitzmäuse, da diese Tiere in dem Gartengelände des Universitätsviertels, woher die Würmer stammten, vorkamen. Eine Durchmusterung der zu den genannten Säugetieren gehörenden Bandwürmer mit Hilfe von v. Linstow (5)

fiel negativ aus. Nunmehr richtete sich mein Blick auf Vögel. In erster Linie dachte ich an Amsel, Hühner und Enten. Die aus Hühnern bekannt gewordenen Bandwürmer kamen, wie eine Durchsicht der Literatur ergab, nicht in Frage. Ueber die in Enten vorkommenden Bandwürmer

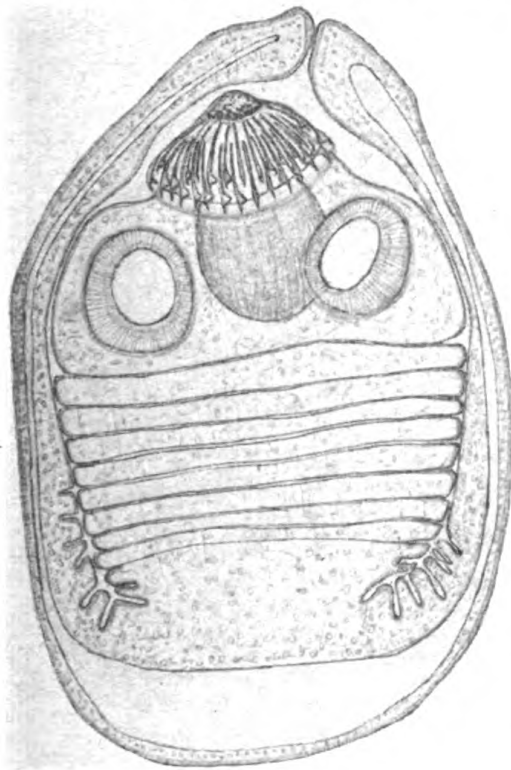


Fig. 1a.



Fig. 1b.

Fig. 1a. Cysticercus von *Dilepis undula* (Schrank) aus der Leibeshöhle des Regenwurmes (*Lumbricus terrestris* L.). Uebersichtsbild nach einem mit Alaunkarmin gefärbten Dauerpräparat. Vergr. ca. 100 X. Ab bescher Zeichenapparat.

Fig. 1b. Ein Haken des hinteren Hakenkranzes. Vergr. ca. 385 X. Ab bescher Zeichenapparat.

fehlte mir die Literatur größtenteils. Unter den bei Drosseln vorkommenden Bandwürmern schien mir die von F. Dujardin (3) angeführte *Taenia angulata* Rud. verdächtig, obgleich eine geringe Differenz in der Zahl und der Größe der Haken vorlag. Da es mir an Vergleichsmaterial fehlte und mir ein erheblicher Teil der einschlägigen Literatur nicht ohne weiteres zugänglich war, so wandte ich mich an Prof. O. Fuhrmann in Neuchâtel, den besten Kenner der Vogelcestoden, mit der Bitte um Diagnose des gefundenen Cysticercus. Prof. Fuhrmann, dem ich auch an dieser Stelle für seine freundliche Hilfe meinen Dank ausspreche, bestimmte diesen nach einem von mir eingesandten Präparat durch Vergleichung mit dem Skolex geschlechtsreifer Bandwürmer als zu *Dilepis undula* (Schrank) gehörig, einem

in zahlreichen Drossel- und einigen Rabenarten gefundenen Bandwurm. Aus Fuhrmanns großer Cestodenarbeit (1908) ersehe ich nachträglich, daß nach L. Cohn der von Dujardin als *T. angulata* Rud. 1809 angeführte Bandwurm synonym mit *T. undulata* Rud. 1809 und *T. undula* (Schränk 1788) ist. Dujardin hat diesen Bandwurm häufiger bei Drosseln angetroffen; er schreibt darüber: „J'ai trouvé fréquemment ce *Ténia* à Rennes dans le merle (*Turdus merula*), dans la grive (*Turdus musicus*) et dans la draine (*Turdus viscivorus*)“. Der Wirtswechsel der *Dilepis undula* (Schränk) scheint nunmehr aufgeklärt zu sein: Drosseln und Raben nehmen die Zystizerken mit Regenwürmern auf, letztere infizieren sich mit dem durch die Vogelexkremente überall im Humus verbreiteten Onkosphären. Zur völligen Sicherstellung des Sachverhaltes wäre natürlich noch der Fütterungsversuch erwünscht. Ich werde einen solchen anstellen, wenn ich wieder in den Besitz infizierter Regenwürmer gelangen sollte. Vielleicht tragen diese Zeilen dazu bei, daß auch von anderer Seite bei Gelegenheit zootomischer Kurse oder sonst auf Zystizerken im Regenwurm geachtet wird und event. Fütterungsexperimente angestellt werden.

#### Schriftenverzeichnis<sup>1)</sup>.

- 1) Braun, M., Cestodes. (Bronns Klassen u. Ordn. d. Tierreich. Bd. 4. 1b. Vermees, Leipzig 1894–1900.) — 2) Ders., Die tierischen Parasiten des Menschen. 5. Aufl. 1915. — 3) Dujardin, F., Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux, Paris 1845. — 4) Fuhrmann, O., Die Cestoden der Vögel. (Zool. Jahrb. Supplem. X. 1908.) — 5) v. Linstow, O., Kompendium der Helminthologie, Hannover 1878. Nachtrag dazu 1889.

Nachdruck verboten.

## Das Männchen von *Cylicostomum ultrajectinum*.

Von J. E. W. Ihle, Tierärztliche Hochschule, Utrecht.

Mit 2 Abbildungen im Text.

In „Tijdschr. v. Diergeneesk.“ Deel 47, p. 279 und in dieser Zeitschrift (Bd. 85. S. 269) beschrieb ich ein einziges, im Dickdarm des Pferdes aufgefundenes Weibchen einer neuen *Cylicostomum*-Art, welche ich *C. ultrajectinum* genannt habe. Herr Dr. A. Kotlán (Budapest), der diese Art ebenfalls in seinem Material auffand, war so freundlich, mir 2 Männchen und 2 Weibchen zuzusenden, wofür ich ihm meinen verbindlichsten Dank sage. Ich bin also jetzt in der Lage, meine ursprüngliche Beschreibung zu vervollständigen.

Das größte Männchen ist ungefähr  $12\frac{1}{2}$  mm lang; maximale Dicke 580  $\mu$ . Die beiden Weibchen sind bedeutend größer als das erstbeschriebene Exemplar; das größte ist ca. 17 mm lang, maximale Dicke 940  $\mu$ . Beide Exemplare sind in der Region der Vulva mit dem bei der Kopulation vom Männchen gebildeten Sekretionsprodukt versehen.

Von einem der Männchen habe ich das Vorderende abgeschnitten, um die Mundöffnung mit ihrer Umgebung von vorn betrachten zu können.

1) Vollständige Literatur bei O. Fuhrmann (1908).

Die äußere Blätterkrone dieses Exemplars besteht aus 12 sehr großen Elementen. Von der inneren Blätterkrone, welche aus ungefähr 46 Elementen besteht — welche Zahl aber nicht ganz genau ist — sind 12 Elemente verlängert. Ihre scharfen Spitzen nähern sich dem Mittelpunkt der Mundöffnung weit mehr als die Elemente der äußeren Blätterkrone. Zwischen 2 verlängerten Elementen der inneren Krone finden sich 2—4 normale.

Wegen der ungleichen Größe der Elemente der inneren Blätterkrone wäre ich geneigt, diese Art in eine besondere Gattung zu stellen, hätten wir nicht innerhalb der Gattung *Poteriostomum* 2 nahe verwandte Arten, von welchen die eine (*P. imparidentatum*) 6 verlängerte Elemente in der inneren Blätterkrone hat, während bei der anderen (*P. Rätzii*) alle Elemente dieser Krone gleich groß sind.

Bei dem Männchen von  $12\frac{1}{2}$  mm Länge ist der Oesophagus  $690\ \mu$  lang, bei dem 17 mm langen Weibchen ca.  $800\ \mu$ .

Die breite Bursa copulatrix hat einen ziemlich kurzen medianen Lappen (Fig. 1). Der Abstand von der Spitze des Hauptastes der dorsalen Rippe bis zur Ursprungsstelle der externo-dorsalen Rippe beträgt  $650\ \mu$ . Die Rippen der Bursa zeigen nichts Auffälliges (Fig. 2). Der Winkel zwischen der externo-lateralen und der medio-lateralen Rippe ist bedeutend kleiner als der Winkel zwischen der medio-lateralen und der postero-lateralen Rippe. Außerdem enden beide letztgenannten Rippen am Rande der Bursa, während das Ende der externo-lateralen Rippe weit vom Rand der Bursa entfernt ist.

Der sehr breite Genitalkonus trägt einen stark entwickelten Dermalkragen mit sehr langen präbursalen Papillen. Die ventrale Seite des Konus zeigt eine durch das Vorhandensein von feinen Furchen verursachte Querstreifung. Anhänge am Genitalkonus scheinen zu fehlen.

Das Hinterende der Weibchen entspricht der Hauptsache nach der von mir gegebenen Beschreibung. Im Gegensatz zu dem von mir be-

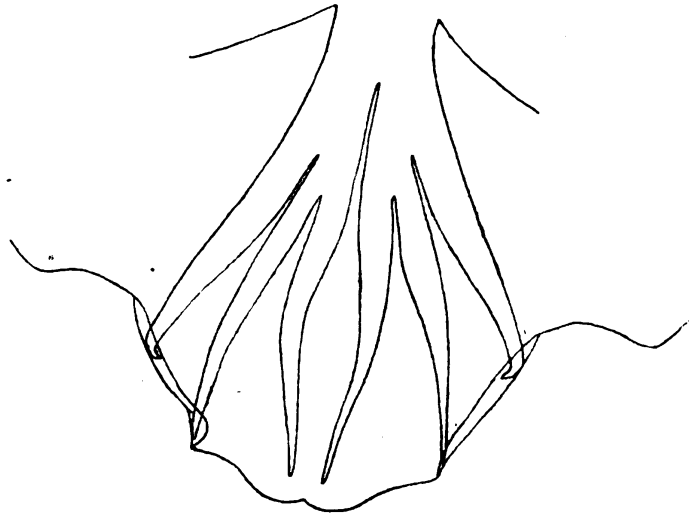


Fig. 1. Mittlerer Lappen der Bursa copulatrix.  $\times 120$  ( $\times \frac{2}{3}$ ).



Fig. 2. Rechte Seite der Bursa copulatrix, flach ausgebreitet.  $\times 70$  ( $\times \frac{2}{3}$ ).

schriebenen Exemplar ist aber bei den beiden mir jetzt vorliegenden Weibchen die Rückenseite des Hinterendes stärker gewölbt als die Bauchseite. Auch fehlt die Einschnürung, welche ich an der dorsalen Seite der Basis der kurzen Spitze, in welche der Körper endet, beschrieben habe und welche also, wie ich vermutete, erst durch die Fixation entstanden ist.

*Nachdruck verboten.*

## Die Biologie der Oxyuren.

Von Dr. med. Richard Rahner, Gaggenuau.

Unter den Nemathelminthen sind es namentlich die Nematoden, welche als Parasiten des Menschen in den letzten Jahren ganz bedeutende gesundheitliche Störungen und nicht allzu selten lebensgefährliche Erkrankungen verursacht haben.

Wenn wir von einer Anguillulidenart absehen, die in Norditalien sehr oft, in Deutschland aber weniger vorkommt, so sind es vor allen Dingen die Askariden, die von uns bei den Wurmerkrankungen fast täglich beobachtet werden: *Ascaris lumbricoides* und *Oxyuris vermicularis*. Der beim Menschen (seltener bei Schweinen) in den letzten Jahren außerordentlich zahlreich vorkommende Spulwurm (*A. lumbricoides*), von welchem in meinem ärztlichen Bezirk mindestens 30 Proz. der Gesamtbevölkerung befallen sind, macht der Therapie keine Schwierigkeiten, da wir im San-tonin bei richtiger Dosierung ein ausgezeichnetes Wurmmittel haben, so daß, würden auch die sonstigen, wichtigen hygienischen Vorschriften befolgt, es nicht allzu schwer wäre, die Askaridenerkrankungen immer mehr auszurotten. *Ascaris lumbricoides* tritt zurzeit derartig schwer auf, wie ich es in früheren Jahren nie beobachten konnte, so daß Ileuserscheinungen oder eine Pseudoperityphlitis, welche wegen Askariden chirurgische Eingriffe erfordert, nicht zu den Seltenheiten gehört (Volkmanns Samml. klin. Vortr. Chir. Nr. 118. 1906).

Kein chirurgisches Interesse erweckt *Oxyuris vermicularis*, aber ganz beträchtliche nervöse Störungen, schwere Schlaflosigkeit, anämische Zustände, Vaginitis und Blasenstörungen konnte ich neben den katarrhalischen Erkrankungen des Darmes beobachten, wenn Oxyuren in beträchtlicher Zahl auftraten. Die *Oxyuris*-Erkrankung ist seit 1½ Jahren in Mittelbaden geradezu epidemisch. Bisher ist die Therapie der Oxyuren keine leichte gewesen, namentlich, wenn es sich darum handelte, eine radikale Heilung zu erzielen, wenigstens nach meiner Erfahrung. Allerdings muß betont werden, daß bei der Therapie der Oxyuren die hygienischen Vorschriften, besonders bezüglich der Handpflege, streng beobachtet werden müssen, damit Autoinfektionen unterbleiben. Eine Ansteckung durch Umgang mit wurmkranken Tieren kann praktisch ignoriert werden, wenn auch im Tierreich Oxyuren vorkommen. Aber gerade die Tatsache, daß die Autoinfektion, die beim Menschen bei dieser Erkrankung eine ganz enorme Rolle spielt, bei Tieren, wie Pferden, kaum in Frage kommen kann, bei Hasen dagegen wieder mehr, erklärt uns die verschiedene Dauer der Wurmerkrankung bei Tieren und das wesentlich verschiedene, quantitative Auftreten dieser Parasiten bei der einzelnen Art.

Guerrini hat 1909 eine Zusammenstellung der in Mailand bei Tieren gefundenen Parasiten gegeben<sup>1)</sup>. Er fand *Oxyuris curvula* (syn.: *Oxyuris equi*, *O. mastigodes*, *Trichocephalus equi*, *Mastigodes equi*) 2mal bei *Equus caballus* im Intestinum, *Oxyuris ambigua* (syn.: *Passalarus ambiguus*) 2mal bei *Lepus timidus* im Intestinum, *Oxyuris obvelata* im Intestinum einer *Mus decumanus* und bei *Macroscincus Coctei* den *O. Paronai*. Rich. Hertwig erwähnt in seinem Lehrbuche der Zoologie die *Ascaris mystax* als bei Hund und Katze vorkommend und sehr selten beim Menschen. Daß diese letztere *Oxyuris* auch bei Hund und Katze selten sein muß, geht daraus hervor, daß sie von Guerrini nicht gefunden wurde; gerade diese, dem Menschen so nahe stehenden Tiere sind also als Infektionsquelle für denselben praktisch belanglos.

Die menschliche Oxyuriasis wird bekanntlich verursacht durch *Oxyuris vermicularis* (Pfriemenschwanz), dessen Biologie jetzt gut erforscht ist, was für eine erfolgreiche Therapie unbedingt notwendig ist. Von dem getrennt-geschlechtlichen *O. vermicularis* ist für die Aetiologie und Pathologie beim Menschen das Weibchen von Hauptinteresse, das durch seine Größe leicht kenntlich (ca. 10 mm) ist, und sich rückwärts in einen „pfriemenförmigen Schwanz“ verlängert<sup>2)</sup>.

Die Oxyuren bewohnen oft zu Hunderten bis zu Tausenden den Dünndarm, wo Männchen und Weibchen ungefähr in gleicher Zahl vorkommen. Hier werden sie, aus dem Ei ausgeschlüpft, in ca. 4 bis 5 Wochen geschlechtsreif (Aufenthalt bis zum Pubertätsende) und begatten sich. Nach der Begattung wandern sie nach dem Coecum, woselbst die Schwangerschaft durchgemacht wird; hier treten sie auch in großen Massen, dem Auge leicht sichtbar, auf.

Die vor der Ablage stehenden Weibchen wandern zur Eiablage durch das Kolon, um zum Anus zu gelangen, und legen dann die Eier in die Analspalte, am Afterring, an die Genitocruralfalte, den Scheideneingang usw., oder sie werden mit dem Stuhle nach dem Rectum befördert, kriechen dann nach dem After, oder werden mit den Dejektionen entleert. Dejektionen sind oft förmlich mit Weibchen übersät, während Männchen, die ja im Kolon nur im Verhältnis von ungefähr 1:20 Weibchen vorkommen, der Beobachtung oft entschwinden. Die nach dem After usw. kriechenden Weibchen veranlassen das Wuseln und Jucken, namentlich abends und in der Bettwärme, und werden dann häufig auf der Bettwäsche liegend gefunden.

Das von diesen, vor der Eiablage stehenden Weibchen verursachte Jucken veranlaßt nun zum Kratzen und Reiben, wobei dann die in der Aftergegend abgelegten Eier unter die Fingernägel gebracht werden, oder es werden solche Weibchen zerdrückt, und damit die Finger erst recht infiziert. Am After sind Oxyureneier oft nachweisbar und an dem bereits entwickelten Embryo leicht erkennbar, so daß durch die infizierten Finger oder durch die von denselben infizierte Nahrung die Autoinfektion rasch fertig ist. Absolut falsch ist die Behauptung, welche in zahlreichen Werken neuester Auflage vertreten wird, daß die Infektion mit Oxyuren nur eine Infektion von Mensch zu Mensch sei. Wohl kommt es gar nicht selten vor, daß ein Oxyurenkranker die Eier auf andere Menschen überträgt, oder daß eine an Oxyuriasis leidende Köchin die Eier auf Nahrungsmittel überträgt, wodurch dann die ganze

1) Index parasitorum, qui exstant in instituto pathol. reg. scolae super. medic. veterin. Mediolani. Bologna 1909.

2) Bei Tieren habe ich eine Topographie ihrer Parasiten seiner Zeit für *Bacterium coli gallinarum* gegeben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. S. 239.)

Familie infiziert werden kann. Besonders aufmerksam gemacht sei auf die Infektionsmöglichkeit, wobei mit Oxyureneiern behaftete Nahrungsmittel (Gemüse, Mehl usw.), welche schon infiziert in das Haus gebracht werden, die Infektionsquelle abgeben. Die Eier von *Ascaris lumbricoides* sind widerstandsfähiger gegen Eintrocknen, behalten aber auch im Wasser ihre Vitalität, so daß Trinkwasserinfektionen möglich sind. Von *Trichocephalus dispar* ist absolut sicher nachgewiesen, daß durch Gartenerde Infektionen entstanden sind. Die Eier von Oxyuren sind aber sehr feuchtigkeitsempfindlich und gehen im Wasser in kurzer Zeit zugrunde, so daß Trinkwasserinfektionen unmöglich sind. Dagegen sind auch diese widerstandsfähig gegen Austrocknung, so daß oxyurenhaltiger, eingetrockneter, zerstäubter Kot infiziert. In dem Fäzes selbst sind Oxyureneier nicht nachweisbar. Ich konnte in Hunderten von Präparaten niemals Oxyureneier nachweisen; wenn ich ab und zu einmal Eier finden konnte, so waren sie in dem Stuhle aufgelagerten Schleimpartikelchen oder stammten von zerdrückten Weibchen.

Die seit 2 Jahren enorm verbreiteten Wurmkrankheiten, besonders auch die Oxyuriasis, an welcher zurzeit in unseren Bezirken mindestens  $\frac{1}{3}$  der Bevölkerung, auch Personen der Gesellschaft, leiden, dürften wohl durch die allgemeine unsachgemäße, unsorgfältige Behandlung der Nahrungsmittel bedingt sein. Zudem kommt dann noch das lange Zeit mangelnde Waschmaterial, schlechte oder gar keine Seife, notgedrungene Sparsamkeit mit Wäsche, Handtüchern usw. Gerade jetzt wird es daher die doppelte Aufgabe sein, energisch gegen die Krankheiten ex helminthiasi zu kämpfen.

Die therapeutischen Aufgaben gegenüber der Oxyuriasis sind uns durch deren Biologie vorgezeichnet. Zunächst gilt es, die Fäkalien der Wurmerkrankten zu vernichten, weil die Oxyureneier sehr resistent gegenüber der Austrocknung sind. Man sollte daher eine Desinfektion der Fäkalmassen, Abortgruben usw. durch Kalkmilch von der Gesundheitspolizei verlangen. Lagerräume usw. müßten wieder in hygienische Zustände verbracht werden usw.

Neben der allgemeinen Hygiene hat die Therapie und die Hygiene bei den Erkrankten einzusetzen. Die vollständige Befreiung von Oxyuren war bisher nicht leicht. Die bisher üblichen Mittel haben selten eine wirkliche Heilung herbeiführen können. Daher ist es mit Freuden zu begrüßen, daß Prof. Dr. Kaufmann in Jena in dem von ihm gefundenen **Oxymors** (fabrikmäßig hergestellt durch die chemischen Werke Rudolstadt, G. m. b. H.) ein souveränes Mittel für die Behandlung der durch die Oxyuren verursachten Krankheit gegeben hat. An 200 Fällen von Oxyuriasis habe ich dasselbe praktisch erprobt, und kann wohl behaupten, daß Oxymors bei dieser Wurmkrankheit vorzüglich wirkt, denn schon nach 1 Woche waren die Pat. ausnahmslos frei von diesen Parasiten<sup>1)</sup>.

1) Eine Arbeit, die speziell die chemischen und therapeutischen Fragen über Oxymors behandelt, ist in der „Berlin. klin. Wochenschr.“ von Kaufmann und mir veröffentlicht worden (Berlin. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 8).

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage des „Lebendiggebärens“ der Kleiderlaus. Eine Klarstellung.

Von Prof. Dr. Albrecht Hase, Berlin-Dahlem.

Veranlassung zu dieser Notiz gibt eine Mitteilung in einer soeben erschienenen Veröffentlichung von R. Weigl<sup>1)</sup>. S. 356 heißt es daselbst wörtlich:

„Wie bekannt, nimmt die embryonale Entwicklung der Laus unter normalen Bedingungen und bei Körperwärme durchschnittlich 6—8 Tage in Anspruch. Es kommt aber auch bei viertägiger Kontrolle der Käfige und sorgfältigster Uebertragung der Läuse in frische Käfige dennoch vor, daß man auch schon nach 4 Tagen in den Käfigen bereits frisch ausgeschlüpfte Läusechen findet. Diese Läuse können ja Nissen entstammen, die zufällig einer Laus anhafteten und dadurch trotz aller Sorgfalt beim Sortieren dennoch übersehen und nicht beseitigt wurden. Wahrscheinlich scheint es mir jedoch, daß wir es da mit Nachkommen lebend gebärender Läuse zu tun haben. Man trifft nämlich ganz ausnahmsweise auch lebend gebärende Läuse, so fand ich bereits 3 weibliche Exemplare, von denen eines tatsächlich eine größere Zahl (5) lebende Larven gebär. Bei den 2 anderen fanden sich bei der Sektion in den Eileitern lebende Embryonen in den verschiedensten Entwicklungsstadien.“

Zu diesen Darlegungen bemerke ich folgendes:

1) Bereits 1915 habe ich tatsächlich beobachtet, daß Nissen unter Umständen von legreifen Weibchen an die Körper anderer Läuse angeheftet werden. In meiner 1. Arbeit<sup>2)</sup> bildete ich auf S. 12 in Fig. 6 2 derartige Fälle ab. Einmal fand ich Nissen an ein Bein, das andere Mal an den Kopf einer anderen Laus angeklebt. Zu dieser anormalen Anheftung von Eiern kommt es besonders dann, wenn man Läuse in engen Zuchtkäfigen oder -schalen hält. Die von Weigl (s. oben) ausgesprochenen Vermutungen sind recht wohl möglich.

2) Weigl behauptet, „lebendig gebärende Kleiderläuse“ beobachtet zu haben. Er sagt einmal, daß er 2 Weibchen vor sich gehabt hätte, bei denen sich im Eileiter lebende Embryonen in den verschiedensten Entwicklungsstadien befunden hätten — hinzugefügt muß natürlich werden, innerhalb des Eies. (D. Verf. Hase.) Wir bemerken zunächst dazu: Wenn eine Laus Eier mit teilweise entwickelten Larven absetzt, so bezeichnet man sie nicht als lebendig gebärend, sondern ovo-vivipar. Nach dieser Richtung hin bringt aber Weigl nichts Neues.

1) Weigl, Untersuch. u. Experim. an Fleckfieberläusen. Technik der Rikettsia-forschung. (Beitr. z. Klin. d. Infektkr. Bd. 8. 1920.)

2) Hase, Beiträge zu einer Biologie der Kleiderlaus. Berlin (P. Parey) 1915.



Derartige Beobachtungen machte ich bereits im Frühjahr 1915 und schrieb darüber<sup>1)</sup> „einige Worte möchte ich noch anschließen über die alten Angaben ‚3–4 Tage‘. Man kann durch niedrige Temperatur die Eiablage unterdrücken, wie schon einmal gesagt wurde. . . . Nun ist es möglich, daß ein Tier ein legreifes Ei in der Vagina liegen hatte, aber an der Ablage selbst verhindert wurde, eben durch Kältewirkung. Da wäre festzustellen, ob nicht im Tier selbst das Ei sich wenigstens etwas entwickelte und dann später, bei wieder eintretender höherer Temperatur ein schon „halbentwickeltes“ Ei abgesetzt wird, welches den Rest der noch fehlenden Ausbildung eben in 3–4 Tagen zurücklegt. Auch diese Frage bedarf noch der Klärung.“ Im Verlaufe weiterer Untersuchungen widmete ich dieser Frage meine Aufmerksamkeit und prüfte viele Weibchen nach dieser Richtung hin. Oftmals fand ich in den Eiröhren Eier mit so weit fortgeschrittener Entwicklung, daß man die Gliederung der Extremitäten, die rotgefärbten Augen und die Hauptborsten des Körpers sehr wohl erkennen konnte.

In einer späteren Arbeit aus dem Herbst 1915<sup>2)</sup> schrieb ich, gestützt auf meine Wahrnehmungen, l. c. S. 262 u. ff.: „In der Regel sind die Weibchen ovipar, d. h. sie legen Eier, die ihre Entwicklung erst außerhalb des Muttertieres beginnen. In seltenen Fällen, deren Ursache ich noch nicht feststellen konnte, sind die Weibchen auch ovovivipar, d. h. sie legen Eier ab, die schon hoch entwickelt sind und den fast fertigen Embryo bergen.“ So weit decken sich die Angaben Weigl und meine vor 4 Jahren gemachten Wahrnehmungen. — Nun schreibt aber genannter Autor (s. oben): man treffe ganz ausnahmsweise auch lebend gebärende Läuse, er habe bereits 3 weibliche Exemplare gefunden, von denen eines tatsächlich eine größere Zahl (5) lebender Larven gebär! Wenn Weigl damit ovovivipare Weibchen meint, so ist es Unklarheit im Ausdruck; wenn er aber damit sagen will, er habe tatsächlich vivipare Kleiderlausweibchen vor sich gehabt, so bin ich etwas skeptisch. — Wir können von lebendig gebärenden Läusen nur dann sprechen, falls der Schlüpfakt aus dem Ei innerhalb des mütterlichen Tieres vor sich geht. So wie sich Weigl ausdrückt, ist man zu der Auffassung gezwungen, als ob er tatsächlich lebendig gebärende Kleiderläuse beobachtet habe, d. h. es hätten frei bewegliche Larven das mütterliche Tier verlassen.

Bei der Wichtigkeit dieses Punktes ist es sehr erwünscht, daß sich genannter Autor zu dieser Frage nochmals, eingehender, als oben angeführt, äußert und unter Umständen die Befunde, welche unsere Kenntnisse über das Verhalten der Kleiderlaus wesentlich erweitern würden, an der Hand von photographischen Wiedergaben darlegt.

Ich selbst habe niemals lebend gebärende Läuse beobachtet — es ist auch schlecht vorstellbar, wie der Schlüpfakt aus dem Ei im engen Uterus vor sich gehen sollte. Wohl aber habe ich beobachtet.

1) Hase, s. o. l. c. S. 23.

2) Hase, Zur Naturgeschichte der Kleiderlaus. (Dermat. Wochenschr. Bd. 62. 1916.)

daß manche Weibchen ovovivipar sind gegenüber den normalen oviparen Exemplaren<sup>1)</sup>. Damit die zunächst sehr schwach begründeten Behauptungen von Weigl — es gäbe lebend gebärende Kleiderläuse — noch nicht in die Literatur aufgenommen werden, sah ich mich zu obiger Klarstellung veranlaßt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue Methode, Nukleoproteide aus Bakterien zu gewinnen.

[Aus der Medizinischen Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Prof. E. Toenniessen, Oberarzt der Klinik.

H. Buchner<sup>2)</sup> hat wohl als erster nachgewiesen, daß die entzündungs- und eitererregende Wirkung der Bakterien auf Eiweißstoffe zurückzuführen ist, welche „beim Absterben der Bakterien zur Ausscheidung aus dem Bakterienleib gelangen, während die lebhaft wachsenden jungen Keimlinge nichts oder möglichst wenig von ihrem Inhalt abgeben“. Buchner stellte seine Versuche mit dem Pneumoniebazillus an und extrahierte zur Gewinnung der Eiweißstoffe die Bazillen in 0,5-proz. Kalilauge mehrere Std. auf dem kochenden Wasserbad, eine Methode, die Nencki<sup>3)</sup> zur Darstellung seines „Mykoproteins“ aus verschiedenen Bakterienarten angegeben hatte. Eine nähere Charakterisierung des gewonnenen Eiweißkörpers führte Buchner jedoch nicht durch.

In der Folgezeit wurden von mehreren Forschern phosphorhaltige Eiweißkörper aus Bakterien gewonnen, aber erst durch Kossel<sup>4)</sup> wurde in der Hefe, durch Lustig und seinen Schüler Galeotti<sup>4)</sup> in mehreren anderen, darunter pathogenen Bakterienarten Nukleoproteid mit Sicherheit nachgewiesen.

Die Bedeutung der Bakterien-Nukleoproteide wurde bisher praktisch entschieden zu wenig gewürdigt, besonders auch in der Therapie am Menschen. Denn die Wirkung der Bakterien auf den Tierkörper scheint, mit Ausnahme der wenigen Arten, welche nichteiweißartige Ektotoxine bilden, hauptsächlich auf den Eiweißkörpern der Bakterienzelle zu beruhen. Wenigstens ist eine antigene und toxische Funktion andersartiger Substanzen von Bakterien (Kohlehydrate, Neutralfette, Lipoiden) noch nicht allgemein anerkannt. Dagegen ist die intensive Wirkung parenteral dem Tierkörper zugeführter Bakteriennukleoproteide schon längst bekannt (vgl. besonders Lustig<sup>4)</sup>; neuerdings wurde nachgewiesen, daß die Bakteriennukleoproteide artspezifische Anaphylaxie (Guerrini<sup>5)</sup>), Komplementbindung (Cannata<sup>6)</sup>) und Agglutinine (Cannata<sup>6)</sup>) hervorrufen. Das Pest-Nukleoproteid hat starke toxische und immunisierende Eigenschaften, und zwar auch beim Menschen (Lustig und Galeotti<sup>4)</sup>), das Choleranukleoproteid bewirkt im Tierkörper die gleichen Veränderungen wie eine Infektion mit lebenden Bazillen (Kravkoff, zit. nach

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, daß ich ganz analoge Beobachtungen an trächtigen Bettwanzen machte. Auch bei diesem Ektoparasiten werden unter Umständen Eier auf ganz verschiedenen Entwicklungsstufen abgelegt.

2) Berlin. klin. Wochenschr. 1890. Nr. 30.

3) Beitr. z. Biol. d. Spaltpilze. Leipzig 1880.

4) Zit. nach Lustig, Bakterien-Nukleoproteide. (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2.)

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. S. 595.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. S. 61.

Lustig)<sup>1)</sup>, ebenso das Typhus-Nukleoprotein (Barantschik)<sup>2)</sup>. Das Milzbrand- und Cholera-Nukleoprotein hat im Tierversuch sichere immunisierende Wirkung (Tiberti<sup>3)</sup> bzw. Galeotti<sup>4)</sup>). Diese Beispiele für die außerordentliche biologische Bedeutung der Nukleoproteide ließen sich leicht vermehren; es geht eindeutig daraus hervor, daß die toxische, antigene und immunisierende Wirkung bei den meisten Bakterien im wesentlichen an das Nukleoprotein gebunden ist; die leichte und genaue Dosierbarkeit und die gute Haltbarkeit macht die Nukleoproteide zu Immunisierungszwecken besonders geeignet.

Da es mir vor kurzem gelang, die Kapselsubstanz des Pneumoniebazillus rein darzustellen und als Galaktan zu identifizieren, war es von Interesse, auch das Bakterieneiweiß, das ja zum großen Teil aus Nukleoprotein besteht, zu gewinnen, um es hinsichtlich seiner aggressiven und immunisierenden Wirkung mit der Kapselsubstanz zu vergleichen. Nach Lustig und Galeotti werden die Bakteriennukleoproteide durch mehrstündige Extraktion der Kulturmasse mit verdünnter Kalilauge (0,75 bis 1,0 Proz.) bei 15° in Lösung gebracht und aus der Lösung durch Essigsäure gefällt. Doch ist auf diese Weise nicht bei allen Arten das Nukleoprotein zu erhalten, da bei manchen Bakterien „die Membran ein unüberwindliches Hindernis für die Extraktion der Nukleoproteide darstellt“, wie schon Buchner<sup>4)</sup> beim Pneumoniebazillus beobachtete. Auch ich konnte bei dieser Methode nur eine Lösung der Gallerthülle beobachten, während das Ektoplasma (die „Membran“) unverändert blieb und kein Nukleoprotein bei 15° und 37° in Lösung gehen ließ. Extrahiert man die Bazillen länger (z. B. 8 Tage in 1-proz. Kalilauge), so tritt zwar allmählich stärkere Lösung der Bazillenleiber und der in ihnen enthaltenen Eiweißkörper ein, aber die Eiweißkörper werden gleichzeitig durch Einwirkung der Lauge so verändert, daß sie mit Essigsäure nicht mehr fällbar sind. Verwendet man ältere Kulturen (4—8 Wochen alt), in denen die Bazillen ihre Gallerthülle schon verloren haben und demnach eine leichte Extraktion der Nukleoproteide zu erwarten ist, so bekommt man zwar beim Ansäuern der alkalischen Digestionsflüssigkeit eine deutliche Trübung; der Gehalt an Nukleoproteiden reicht jedoch zu einer Fällung nicht aus.

Ich versuchte deshalb das von Buchner<sup>4)</sup> in Anknüpfung an Nencki<sup>5)</sup> angewandte Verfahren. Die Bazillen werden dabei in 1-proz. Kalilauge suspendiert und 4—7 Std. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Durch Filtrieren erhält man eine klare, gelbbraune Flüssigkeit, aus der das Protein durch vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure gefällt werden kann. Bei der Nachprüfung erhielt ich jedoch bei 1—2-stünd. Erhitzen in der filtrierten, klaren Extraktionsflüssigkeit keine Trübung mit Essigsäure, mit Essigsäure und Ferrocyankali sowie mit der Biuretprobe nur schwache Reaktion, nach längerem Erhitzen (4—7 Std.) fielen auch diese Proben negativ aus; eine Fällung durch Essigsäure erhielt ich nie. Worin diese Unstimmigkeit gegenüber den Angaben Buchners beruht, weiß ich nicht.

Auf der Suche nach anderen Methoden fand ich, daß Nencki und Schaffer<sup>6)</sup> zur Gewinnung des „Mykoproteins“ die Bazillen zuerst

1) Zit. nach Lustig, Bakterien-Nukleoproteide. (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2.)

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. S. 682.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. S. 405.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1890. Nr. 30.

5) Beitr. z. Biol. d. Spaltpilze. Leipzig 1880.

6) Journ. prakt. Chem. N. F. Bd. 20.

in verdünnter Salzsäure erhitzten und dann mehrere Stunden in 1,5-proz. Kalilauge auf dem kochenden Wasserbad extrahierten. Das Mykoprotein wird dann durch Aussalzen gewonnen. Da aber das Erhitzen mit Kalilauge schon bei Nachprüfung der Buchnerschen Methode versagte und da außerdem das „Mykoprotein“ Nenckis in späteren Untersuchungen nicht wieder gefunden wurde, kam diese Methode nicht in Betracht.

Vorbehandlung der Bazillen mit Salzsäure bei 15°, wie sie v. Hoffmann<sup>1)</sup> zur Gewinnung der Eiweißkörper der Tuberkelbazillus anwandte, führte auch nicht zum Ziel, da hierdurch beim Pneumoniebazillus keine vollständige Trennung der Bazillenleiber von den Gallerthüllen zu erreichen ist und keine klare Lösung erhalten wird, aus der man die Eiweißkörper fällen könnte.

Mehr zufällig führte eine andere Methode zum Ziel. Bei der Nachprüfung der Angaben Hamms<sup>2)</sup> über die Gewinnung der Kapselsubstanz wurden die vom Nährboden abgeschwemmten Kulturen in 20-fach verdünnter Salzsäure (spez. Gew. 1,20) suspendiert (Muzinnachweis nach Salkowski<sup>3)</sup>) und 5 Min. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Nach 2-stünd. Zentrifugieren erhält man eine klare Lösung der Kapselsubstanz und ein Sediment von kapsellosen Bazillen. Soweit stimmten meine Befunde mit denen Hamms überein. Weiter gibt jedoch Hamm an, daß die Lösung keine Kupferoxyd reduzierende Substanz enthält (selbst nach weiterem Erhitzen der salzsauren Lösung auf dem Wasserbad während 10 Min.), während ich hierbei sehr starke Reduktion feststellen konnte; da Hamm außerdem beobachtet hat, daß die schwach alkalische Emulsion seiner Kulturen mit Essigsäure deutliche Trübung gibt, zieht er den Schluß, daß die Substanz der Kapsel kein Muzin, sondern ein Nukleoalbumin- bzw. Proteid sein müsse. Ueber Eiweißreaktionen berichtet er jedoch nicht; der Nachweis, daß die Kapselsubstanz ein Kohlehydrat ist, den Verf. bereits an anderer Stelle<sup>4)</sup> erbracht hat, entging Hamm, und zwar, wie ich aus seiner Versuchsanordnung entnehme, wohl durch unrichtige Ausführung der Reduktionsprobe.

Da also bei der geschilderten Vorbehandlung mit Salzsäure die Kohlehydrathülle der Bazillen in Lösung geht, lag es nahe, das durch Zentrifugieren erhaltene Sediment von kapsellosen Bazillen auf Nukleoproteid zu untersuchen. In der Tat gelang der Nachweis.

Ich prüfte ferner auch die Flüssigkeit auf Nukleoproteid, da F. Müller<sup>5)</sup> angibt, daß bei Darstellung des Sputummuzins durch Waschen mit verdünnter Salzsäure ein Teil der Nukleoproteide in Lösung geht. Es zeigte sich, daß auch in der Flüssigkeit Nukleoproteid, allerdings nur in geringen Mengen, vorhanden war. Die Methode, die ich im Prinzip schon kurz beschrieben habe<sup>6)</sup>, hat seitdem einige Verbesserungen erfahren.

Hinsichtlich der Gewinnung der nötigen Massenkulturen, deren Trennung vom Nährboden und Verarbeitung zur Gesamttrockensubstanz verweise ich auf meine Arbeit über die Kapselsubstanz des Pneumonie-

1) Wien. klin. Wochenschr. 1894. Nr. 38.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 298.

3) Praktikum d. physiol. u. path. Chem. 1906. S. 136.

4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 85.

5) Zeitschr. f. Biol. Bd. 42. S. 468.

6) München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 49.

bazillus<sup>1)</sup>. Die weitere Verarbeitung geschieht folgendermaßen: 0,5 g der Gesamttrockensubstanz werden in 95 ccm dest. Wasser gebracht. Die Substanz quillt darin allmählich auf und läßt sich durch mehrmaliges Umschütteln während des Quellens im Verlauf von 12—24 Std. homogen verteilen. Es resultiert eine farblose, stark getrübe, sehr visköse und fadenziehende Flüssigkeit. Nun werden 5 cm konzentrierte reine Salzsäure zugesetzt (spezif. Gew. 1,20), durch Schütteln gemischt und 5 Min. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Die Flüssigkeit bleibt dabei trüb. Dann wird im fließenden Wasser abgekühlt, mit 33 Proz. Natronlauge eben alkalisch gemacht und mit konzentrierter Salzsäure eben wieder angesäuert. Es bildet sich ziemlich rasch ein feinflockiger Niederschlag, die Flüssigkeit scheint sich zu klären. Nach dieser Vorbehandlung braucht man jetzt nur  $\frac{1}{2}$  Std. zu zentrifugieren, um eine völlig klare Flüssigkeit und ein scharf abgesetztes Sediment zu erhalten. Die Flüssigkeit (in folgendem kurz als „Salzsäureflüssigkeit“ bezeichnet) wird abpipettiert, schwach alkalisch gemacht und dann mit Essigsäure eben angesäuert, worauf noch ein Zusatz von Essigsäure zur Endkonzentration von 1 Proz. erfolgt. Es bildet sich dabei eine Trübung und bald ein flockiger Niederschlag von Nukleoproteid. Dieser Niederschlag ist von äußerst geringer Menge; man kann aus der Salzsäureflüssigkeit mehr gewinnen, wenn man die Kulturmasse statt 5 Min. 10 Min. in der verdünnten Salzsäure auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wird aber aus dem Sediment um so weniger gewonnen; die beste Ausbeute ergibt die Erhitzung auf 5 Min.

Das Sediment wird in 1-proz. Kalilauge aufgeschwemmt, 16—24 Std. bei 15° stehen gelassen, dann abzentrifugiert, die leicht getrübe Flüssigkeit abpipettiert, mit Essigsäure eben angesäuert und dann mit Essigsäure zur Endkonzentration von 1 Proz. versetzt. Die Flüssigkeit trübt sich gleichzeitig mit dem Eintritt saurer Reaktion und setzt bald ein feinflockiges Sediment, das Nukleoproteid, ab. Die Substanz wird dann mit Hilfe der Zentrifuge in Wasser gewaschen und durch mehrmaliges Lösen in Alkali und Fällen durch Essigsäure gereinigt.

Das Nukleoproteid löst sich leicht in Alkali unter geringer Opaleszenz, ist in Wasser und verdünnten Säuren unlöslich, gibt starke Biuretreaktion. Ebenso ist die Millonsche und die Xanthoproteinreaktion positiv.

Das ausgefällte Nukleoproteid kann durch die von Lustig und Galeotti<sup>2)</sup> angegebenen Methoden konserviert oder durch Alkohol und Aether wasserfrei und als helles, meist etwas bräunlich gefärbtes Pulver gewonnen werden. Es wird durch den Alkohol und Aether koaguliert und ist dann in Alkali unlöslich. Der Stickstoffgehalt ist 11,35 Proz., also ungefähr der gleiche wie bei den anderen Bakteriennukleoproteiden, der Purinbasenstickstoff 0,61 Proz. (Bestimmung nach Brugsch-Schittenhelm<sup>3)</sup>). Nun enthält die Gesamttrockensubstanz der Bazillen 0,42 Proz. Purinstickstoff und 4,9 Proz. Stickstoff im ganzen, also beinahe relativ ebensoviel Purinstickstoff, wie das isolierte Nukleoproteid. Dieser auffallende Befund ließ vermuten, daß das Nukleoproteid bei der Darstellung Zersetzungen erleidet, insbesondere ärmer an Purinbasen wird. In der Tat zeigte es sich, daß beim Erhitzen der Gesamttrockensubstanz

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 85.

2) Zit. nach Lustig, Bakteriennukleoproteide (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2).

3) Spez. Technik klin. Untersuchungsmeth. 1914. Teil II. S. 719.

in verdünnter Salzsäure  $\frac{2}{3}$  des Gesamtstickstoffs und  $\frac{4}{5}$  des Purinbasenstickstoffs aus den Bazillenleibern extrahiert werden und für die Gewinnung des Nukleoproteids verloren gehen, da sie durch Essigsäure nicht gefällt werden.

Bei Verarbeitung von 500 mg Ges.Tr.Subst. mit 24,5 mg Gesamtstickstoff und 2,10 mg Purinstickstoff gingen 16,8 mg Gesamt-N als Peptone (Biuretreaktion positiv) und 1,7 mg Purin-N aus den Bazillenleibern in die Lösung über. Nukleinsäuren waren in der Lösung weder durch Mineralsäuren noch durch Kupferchlorid nachzuweisen. Dagegen fanden sich Spuren freier Phosphorsäure und organisch gebundener Phosphorsäure. Außer dem Nukleoproteid konnten andere Eiweißkörper aus der Salzsäureflüssigkeit sowie aus den Bazillenleibern nur in Spuren gewonnen werden (Fällung durch Ammonsulfat). Nach der Veraschung mit Soda und Salpeter gibt das Nukleoproteid schwache Phosphorreaktion; zur quantitativen Bestimmung hatte ich nicht genügend Substanz, da der Phosphorgehalt bei den bisher untersuchten Bakterien-nukleoproteiden sehr gering ist (0,028—0,043 Proz. nach Lustig<sup>1</sup>).

Der Umstand, daß das Nukleoproteid bei der Darstellung Zersetzungen erleidet, ist kein Gegengrund, den durch Essigsäure fällbaren Körper als Nukleoproteid zu bezeichnen. Es ist ja bekannt, daß die Nukleoproteide, da sie aus dem Innern der Zellen freigemacht werden müssen, nur unter einer mehr oder weniger hochgradigen chemischen Veränderung gewonnen werden können, und man bezeichnet deshalb die mittels kalter Extraktionsmittel gewonnenen Körper als  $\alpha$ -Nukleoproteide, die mittels heißer Extraktionsmittel gewonnenen als  $\beta$ -Nukleoproteide (vgl. F. Samuely<sup>2</sup>). Die Nukleoproteide sind außerdem schwer oder überhaupt nicht rein darzustellen; trotzdem müssen sie als wirkliche Bausteine der Zellen angesehen werden (vgl. Schittenhelm und Brahm<sup>3</sup>). Zu den  $\beta$ -Nukleoproteiden müßte also der in vorstehendem beschriebene Eiweißkörper des Pneumoniebazillus gerechnet werden.

Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, welche aggressiven und immunisierenden Eigenschaften das Nukleoproteid besitzt, ob die artspezifischen, als Antigen wirkenden Gruppen des Eiweißmoleküls bei der Darstellung erhalten geblieben sind. Auf Grund zweier Beobachtungen ist eine stärkere Antigenwirkung vom Nukleoproteid als vom Gesamt-bazillus zu erwarten:

1) Aeltere Kulturen zeigen nach eigener Beobachtung eine stärkere immunisierende Wirkung als frische<sup>4</sup>). Dies rührt vermutlich von Nukleoproteiden her, welche durch autolytische Prozesse aus dem Innern der Bakterienzelle frei geworden sind, denn die alkalische Extraktionsflüssigkeit älterer Kulturen gibt mit Essigsäure eine bedeutend stärkere Trübung als der Extrakt frischer Kulturen.

2) Vom unveränderten Pneumoniebazillus ist im Tierkörper nur eine geringe Antigenwirkung zu erwarten, da bei der Temperatur des Tierkörpers selbst 1-proz. Kalilauge nicht dazu genügt, um die Eiweißkörper aus dem Innern der Bakterienzelle in Lösung zu bringen (wenigstens nicht in kürzerer Zeit und unverändert). Um wie viel weniger

- 1) Zit. nach Lustig, Bakteriennukleoproteide (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2).
- 2) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. Bd. 2.
- 3) Oppenheimer, Handb. d. Biochem. Bd. 1.
- 4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76.

müssen die tierischen Säfte dazu imstande sein, das Antigen aus den Bazillenleibern frei zu machen!

### Zusammenfassung.

Durch Vorbehandlung mit verdünnter Salzsäure (kurze Erhitzung auf dem Wasserbad) und folgende Extraktion in 1-proz. Kalilauge bei 15° gelingt es, aus dem Pneumoniebazillus ein  $\beta$ -Nukleoproteid zu gewinnen. Die bisher bekannten Methoden der Nukleoproteidgewinnung versagen bei diesem Bakterium. Es ist zu erwarten, daß die neue Methode auch bei anderen Bakterienarten, bei denen bisher kein Nukleoproteid zu gewinnen war, zum Ziele führt. Versuche, durch das Nukleoproteid stärkere Antigenwirkung und Immunität zu erzielen als durch die ganzen Bazillenleiber, erscheinen auf Grund einiger Beobachtungen aussichtsreich.

### Berichtigung.

In dem Aufsatz „Ein Jahr Anophelenbeobachtung“ von Hans Osterwald und Ernst Tänzer, diese Zeitschr. Bd. 85. 1920. H. 1, muß es heißen statt „Im Dezember war jedoch die Stechlust am größten“ auf S. 44 unter Nr. 4., zweiter Absatz, zweite Zeile: „Im Dezember war jedoch die Stechlust am geringsten“!

### Inhalt.

- |  |   |
|--|---|
| <p><b>Abel</b>, Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit des Herrn Prof. Dr. Bitter-Kiel, S. 349.</p> <p><b>Bach, F. W.</b>, Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens, S. 305.</p> <p><b>Bitter, Ludwig</b>, Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose. Mit 1 Kurve im Text, S. 339.</p> <p>—, Entgegnung auf die vorstehenden Bemerkungen des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Abel, S. 351.</p> <p><b>Hase, Albrecht</b>, Zur Frage des „Lebendiggebärens“ der Kleiderlaus“. Eine Klarstellung, S. 377.</p> <p><b>Ihle, J. E. W.</b>, Das Männchen von <i>Cylicosomum ultrajectinum</i>. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 372.</p> <p><b>Klinger, R.</b>, Zur Aetiologie der Aktinomykose, S. 357.</p> | <p><b>Konrádi, Daniel</b>, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. IV. Mitteilung. Beitrag zur Kenntnis der Heilung der Wut, S. 359.</p> <p><b>Olsen, O.</b>, Untersuchungen über den Pfeifferschen Bazillus. III. Mitteilung, 354.</p> <p><b>Prausnitz, Carl</b>, Bakteriologische Untersuchungen über Schweinerotlauf beim Menschen, S. 362.</p> <p><b>Rahner, Richard</b>, Die Biologie der Oxyuren, S. 374.</p> <p><b>Toenniessen, E.</b>, Ueber eine neue Methode, Nukleoproteide aus Bakterien zu gewinnen, S. 379.</p> <p><b>Uhlenhuth, P.</b>, u. <b>Mantenfel, P.</b>, Zur Kenntnis der Geflügelpocken, S. 366.</p> <p><b>Vogel, R.</b>, Ein <i>Cysticercus</i> des Regenwurmes als Jugendform der Vogeltänie <i>Dilepis undula</i> (Schränk). Mit 2 Abbildungen im Text, S. 370.</p> |
|--|---|

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 85. Beiheft.

Ausgegeben am 28. Februar 1921.

*Nachdruck verboten.*

## Bericht über die 8. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie vom 8. bis 10. Sept. 1920 in Jena.

Zusammengestellt von dem ständigen Schriftführer **R. Otto** (Berlin).

1. Tag. 8. Sept. 1920 Vorm.

Sitzung im Hygien. Institut der Universität.

Vorsitzender: **W. Kolle** (Frankfurt a. M.).

Geschäftlicher Teil: Der Vorsitzende begrüßt die Mitglieder und die Gäste der Vereinigung, welche nach 6-jähriger Unterbrechung zum 8. Male tagt. Er gedenkt der verstorbenen und der im Weltkriege gebliebenen Mitglieder (Apolant, Aronson, v. Behring, Bitter, Brieger, Dammann, Ehrlich, Emmerich, v. Es-march, Finger, Fischer, Fränken, Gaffky, Gonder, Hammerl, Herr, Hofer, Jochmann, Kretz, Levy, Liefmann, Löffler, Lühe, O. Müller, P. Th. Müller, Nietner, Proskauer, v. Prowazek, Römer, Schottelius, Tavel, Trautmann, Wyss), unter denen sich eine große Zahl führender Geister und Bahnbrecher auf dem Gebiet der Mikrobiologie befinden.

Der Vorsitzende verweist u. a. auf die zurzeit bestehende wirtschaftliche Not-lage Deutschlands hin, die auch die wissenschaftliche Tätigkeit der Institute stark be-einträchtigt. Um die Forschungsarbeiten der deutschen Mikrobiologen auf ihrer alten Höhe erhalten zu können, sei es notwendig, Parlamente, Behörden und Private, vor allem die Industrie, für unsere Arbeiten mehr als bisher zu interessieren. Auf seinen Vorschlag wird zu diesem Zwecke eine Kommission (bestehend aus Lehmann, Pfeif-fer, Kolle und Uhlenhuth) gewählt.

Abel begrüßt als Institutsdirektor die Versammlung in den Räumen des Hygie-nischen Instituts und zugleich als Dekan im Namen der medizinischen Fakultät.

Kolle dankt im Namen der Vereinigung und teilt weiter mit, daß der Ausschuß folgende Statutenveränderungen vorschlägt:

1) § 3, Ab-atz 3 soll lauten: „Bei jeder Tagung scheiden die beiden am längsten dem Ausschuß angehörenden Mitglieder aus. An ihrer Stelle usw.“

2) § 10 soll heißen: „Der Jahresbeitrag beträgt 20 M. Die Kasse usw.“

Die vorgeschlagenen Aenderungen werden von der Versammlung angenommen. Bezüglich der nächsten Tagung wird beschlossen, daß im Jahre 1921 keine Tagung stattfinden soll; das Weitere wird dem Ausschuß überlassen.

Auf Vorschlag des Ausschusses werden gewählt:

1) für die ausgeschiedenen Mitglieder Fischer-Kiel (verstorben) und Gärtner-Jena (ältestes Ausschußmitglied): Abel-Jena und Uhlenhuth-Berlin;

2) für den auf seinen Wunsch ausscheidenden (seit 1913 dieses Amt versehenden) Schriftführer Neufeld-Berlin: R. Otto-Berlin. Neufeld erklärt sich bereit, für den dienstlich verhinderten neu gewählten Schriftführer während der Tagung weiter zu fungieren.

Als Vorsitzenden für das nächste Jahr hat der Ausschuß Uhlenhuth-Berlin gewählt.

Der Ausschuß besteht demnach aus:

Uhlenhuth (Berlin), Vorsitzender,  
Kolle (Frankfurt a. M.),  
v. Ostertag (Berlin),  
Kruze (Leipzig),  
Doerr (Basel),  
Abel (Jena),  
Otto (Berlin), Schriftführer.



## Wissenschaftlicher Teil.

### 1. Referat. Doerr (Basel):

#### **Das Fleckfiebertvirus und seine immunisatorischen Eigenschaften.**

Meine Herren! Als Fachleute und Kenner der einschlägigen Literatur werden Sie nicht verlangen, daß ich im Rahmen eines kurzen Referates unsere derzeitigen Auffassungen über die Aetiologie des Fleckfiebers kritisch und gleichzeitig auch nur annähernd vollständig darstelle. Beiden Forderungen zu entsprechen ist bei dem Umfang, den dieses Gebiet in den letzten Jahren angenommen hat, und bei der wachsenden Zahl der noch unerledigten oder strittigen Probleme einfach ausgeschlossen. Daß ich vor das Dilemma gestellt das Streben nach Vollständigkeit unbedenklich opferte und beschloß, mich auf die analytische Zergliederung der fundamentalsten Fragen zu beschränken, war durch das Niveau, welches die Tagungen unserer Vereinigung stets auszeichnete, begründet und auch insofern gerechtfertigt, als das Bedürfnis nach genauen, alle Details berücksichtigenden Abhandlungen durch die zusammenfassenden Arbeiten von da Rocha-Lima in den Ergebn. d. allg. Pathologie, von Ch. Nicolle in den Bulletins de l'Institut Pasteur und von Th. Zlocisti in den Weichardtschen Jahresberichten weitgehend saturiert erscheint. Die genannten drei Monographien, von denen jede die Eigenart ihres Autors widerspiegelt, ergänzen sich gegenseitig vortrefflich und gewähren — wenn man von der letzten Mitteilung Kuczynskis über die Kultur des Fleckfiebererregers absieht — ein ziemlich lückenloses Bild der bisher gewonnenen Resultate; sie gestatten auch einen genügenden Einblick in den Stand der Diskussion, ermöglichen aber dem Leser, der nicht über eigene ausgedehnte experimentelle Erfahrungen verfügt, kein sicheres Urteil, wie weit man sich auf die Fleckfieberversuche in der heute allgemein üblichen Form der Meerschweincheninfektion und auf die zahlreichen daraus abgeleiteten Schlußfolgerungen verlassen darf. Die überzeugenden Ausführungen von da Rocha-Lima und Nicolle lassen allerdings Zweifel in dieser Richtung kaum aufkommen; die Einwände von Zlocisti oder Friedbergers geschickte Polemik sind aber trotz alledem geeignet, das Vertrauen des Fernstehenden nachhaltig zu erschüttern. Diesen Zustand der Unklarheit sollte man beseitigen; denn mit dem Meerschweinchenversuch steht und fällt das meiste von dem, was wir heute für bewiesen halten. Meines Erachtens genügt es nicht, die Gegner des Meerschweinchenexperimentes einfach majorisieren oder damit abfinden zu wollen, daß man den Anspruch auf Beachtung ihrer Meinungsäußerungen mit dem Hinweis auf die fehlende oder unzureichende experimentelle Betätigung bestreitet. Kritiker müssen angehört und widerlegt werden; und wenn sie von biologischen ebenso wie von allen anderen Versuchsanordnungen Reproduzierbarkeit und Eindeutigkeit verlangen, so befinden sie sich im Recht. Ob aber die landläufige Technik des Meerschweinchenexperimentes und seines gewohnten Kontrollapparates diesen Postulaten restlos genügt, darf in Frage gestellt werden, auch wenn man sich sonst nicht zu den Argumentationen von Zlocisti und Friedberger bekennt; dazu autorisiert u. a. die Tatsache, daß zwei Anhänger der Methode, da Rocha-Lima und ich, kontradiktorische Ergebnisse erzielten, als sie die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit abgetötetem Fleckfiebertvirus feststellen wollten.

Bei dieser Sachlage erschien es mir am zweckmäßigsten, in erster Linie unser Wissensinventar über die Pathogenität des Fleckfiebertvirus, also über die einzige Eigenschaft, welche bisher zu seinem Nachweis verwendet werden kann, zu revidieren und auf die hier bestehenden Unklarheiten hinzuweisen.

Sie wissen, daß man in einer sehr großen Zahl von Fällen mit dem Blute fiebernder Exanthematicuspatienten gesunde Menschen infiziert hat. Diese Tatsache wird überall erwähnt, ist daher auch allgemein bekannt; mit den recht merkwürdigen Einzelheiten hat man sich jedoch sehr wenig befaßt. Zunächst stellt es sich bei der Durchsicht dieser Berichte heraus, daß das Eindringen von frischem Fleckfieberblut in seichte oder geringfügige Hautverletzungen keine Infektion zur Folge hat. Schon im Jahre 1782 berichtete August Krauss, daß er sich selbst vergeblich das Blut einer Petechie inokuliert habe, und 1785 teilte Stoll mit, er hätte wiederholt, aber stets mit negativem Resultat versucht, das durch Skarifikation aus Petechien gewonnene Blut auf gesunde Individuen zu verimpfen; ebensowenig wollte es 1873 Obermeier gelingen, absichtlich beigebrachte Ritzwunden der Haut gesunder Personen mit Exanthematicusblut zu infizieren. Ganz analoge Angaben finden sich bei Munk, Nicolle und Zlocisti. Die Unwirksamkeit dieser Applikationsart des Virus hat höchstwahrscheinlich nichts mit einer zu geringen Zahl von Erregeren zu schaffen, sondern beruht entweder darauf, daß dem Fleckfieberkeim die bei den Spirochäten so entwickelte Fähigkeit des aktiven Eindringens in die tieferen Gewebsschichten mangelt, oder die Sache liegt so, daß dieses Mikrobion tatsächlich ein obligater Zellschmarotzer im Sinne Kuczynskis ist und in oberflächlichen Läsionen des Integumentes nicht jene Wirtszellen antrifft, in denen es allein zu parasitieren vermag. Beide Erklärungen schließen sich übrigens gegenseitig nicht aus.

Die subkutane Injektion von Fleckfieberblut in Dosen von 0,2—5,0 ccm hat dagegen relativ häufig die spezifische Krankheit beim Menschen hervorgerufen, aber — und das ist festzuhalten — durchaus nicht immer, sondern nicht öfter als in etwa 50 Proz. aller angestellten Versuche. Mit einer einzigen Ausnahme, welche Yersin und Vassal betrifft, hatten sämtliche Experimentatoren auf diesem Gebiete Versager zu verzeichnen, Finn und Artemowitsch, Moczutkowski, Otéro, der berüchtigte Dr. H. O., und endlich auch Hamdi. Die Versager sind somit gesetzmäßig und im auffälligsten Kontrast zu der so allgemeinen und hochgradigen Disposition des Menschen gegenüber dem natürlichen Infektionsmodus, wie sie sich aus ungezählten epidemiologischen Erfahrungen ergibt. Man kann selbstverständlich das Fehlschlagen der Infektionsversuche durch subkutane Bluteinspritzung nicht auf Variationen der individuellen Resistenz beziehen; es ist widersinnig, auf der einen Seite die maximale Empfänglichkeit der Spezies Mensch zuzugestehen, und, sobald eine andere plausible Erklärung fehlt, bei der Hälfte aller Individuen einen absolut refraktären Zustand anzunehmen.

Als wahre Ursachen der Erscheinung kommen vielmehr nur in Betracht: 1) die besondere Beschaffenheit des virushaltigen Materials oder 2) die Art, wie dasselbe in den empfänglichen Organismus eingebracht wird.

Leider gestatten die vielen Menschenexperimente weder in der einen noch in der anderen Richtung ein Urteil, weil die Versuchsbedingungen

nicht variiert wurden. Man hat bis jetzt immer nur Fleckfieberblut eingespritzt, so daß jede Vergleichsmöglichkeit mit anderen virus-haltigen Substraten von höherer oder konstanter Infektiosität fehlt; alle Injektionen wurden subkutan ausgeführt, so daß sich auch keine Parallele mit einem anderen, speziell mit dem endovenösen Applikationsmodus ziehen läßt; ja man hat infolge des kleinen Intervalles, in welches sämtliche zur Injektion gelangte Blutquanten fallen, nicht einmal approximative Anhaltspunkte über die infizierenden Minimaldosen und damit über den Keimgehalt des Fleckfieberblutes gewonnen. Angaben verlässlicher Art über einen dieser drei Punkte wären von großer Bedeutung und geeignet, viele dunkle Gebiete der Pathogenese dieser Infektion zu erhellen. Einstweilen beschränkt sich die ganze wissenschaftliche Ausbeute, die allerdings noch immer hoch zu bewerten ist, auf die unmittelbare Gewißheit, daß das Fleckfieber experimentell übertragbar ist, und daß der Erreger im Blute vorhanden sein muß.

So bleibt es vorläufig unentschieden, wie man sich zu der obigen Alternative über den inkonstanten Ausfall der Menschenversuche stellen soll, und das ist bedauerlich, weil Fleckfieberblut vom Menschen auch auf alle anderen empfänglichen Tierspezies, z. B. auf Affen oder Meerschweinchen, genau in derselben unregelmäßigen Art und offenbar aus den gleichen Gründen einwirkt; den positiven Resultaten steht eine stattliche Anzahl von Mißerfolgen gegenüber, wie aus den Mitteilungen von Anderson und Goldberger, Otto und Dietrich, Nicolle und Lebailly klar hervorgeht.

Man hat sich mit der Hypothese zu helfen gesucht, daß das Fleckfieberblut arm an Erreger-elementen sein müsse; als Beweis wird angeführt, daß die Infektionen bei Versuchstieren nach Anwendung großer Quantitäten sicherer haften. Was versteht man aber unter „großen“, was unter kleinen, nicht mehr regelmäßig infizierenden Dosen? Da erfährt man zu seiner Ueberraschung, daß der Ausfall eines Meerschweinchenexperimentes schon davon abhängen kann, ob man statt 2,5 nur 0,5 oder gar statt 3,5 nur einen Kubikzentimeter injiziert, und daß schließlich auch die höchsten noch zulässigen Dosen gelegentlich Versager liefern. Soll daran die Keimarmut des Fleckfieberblutes schuld sein, so müßte sie so beträchtliche Grade erreichen, daß sie in unlösbarem Widerspruch mit der raschen Verbreitung des Fleckfiebers durch blut-saugende Läuse stünde. Nach den vielzitierten Untersuchungen von Sikora und Halberkann sowie Widmann beträgt das Gewicht der Blutmahlzeit einer Kleiderlaus 0,0003—0,0008 g; die Chance, daß die Laus selbst durch wiederholte Saugakte infiziert wird, müßte daher mit der Abnahme der Erreger-elemente im Blut bis zu der eben angedeuteten Grenze rapide absinken. Damit läßt sich aber weder die Epidemiologie noch auch das Ergebnis der experimentellen Lausfütterungen, wie sie von da Rocha Lima, mir und Schnabel, Otto und Dietrich angestellt wurden, in Einklang bringen. Man darf also aus der infizierenden Minimaldosis nicht ohne weiteres auf den Reichtum eines Substrates an pathogenen Keimen schließen, wie das da Rocha-Lima oder Landsteiner und Hausmann versucht haben; das geht offenbar nur dann, wenn der als Reagens verwendete empfängliche Organismus für die betreffende Infektion die Einkeimdisposition besitzt, und vor allem auch nur, wenn der Infektionsmodus optimal ist. Mit subkutanen Injektionen könnten Sie z. B. auch den Gehalt einer Blutprobe

an Malariaplasmodien nicht bestimmen, was ich sofort beweisen werde. Ich injizierte 4 Paralytiker zu therapeutischen Zwecken mit derselben Probe Malariablut, stammend von einem unbehandelten Tertianafall, subkutan; die Dosen betrugen 0,25, 0,05, 0,0025 und 0,000125 ccm Blut. Nur der Paralytiker mit 0,0025 ccm bekam Malaria, die 3 anderen blieben bis heute, d. h. durch 1 Jahr fieberfrei. Die Nutzenanwendung ist wohl klar; ich verweise nur darauf, daß unter natürlichen Verhältnissen sowohl die Malariaplasmodien als die Fleckfieberkeime durch das stechende Insekt direkt in die Zirkulation, nicht aber in das subkutane Zellgewebe eingeimpft werden, und daß es daher nach der Injektion von Parasiten ins Gewebe zu einem Absterben derselben kommen kann, weil man die Anpassung an eine bestimmte Infektionspforte vernachlässigt. Ob nach subkutaner Injektion eine Infektion zustande kommt, wird dann davon abhängen, ob und in welchem Umfange bei dem Eingriff kleine Gefäße eröffnet wurden.

Neben dem Applikationsmodus kann für den paradoxen Ausfall der Menschenexperimente vielleicht noch ein Umstand verantwortlich gemacht werden. Die „besondere Beschaffenheit“ des virushaltigen Materiales besteht ja nicht nur in seinem Gehalt an Erregerelementen, sondern auch in den in diesem Material prävalierenden Entwicklungsstadien der spezifischen Keime und schließlich in der Art, wie sie im Material verteilt und eingeschlossen sind. Man weiß da freilich sehr wenig, aus den Menschenversuchen nur, daß die subkutane Injektion von defibriniertem Blut sicherer zu wirken scheint als die von nicht defibriniertem. Denn in einer Versuchsserie von Hamdi war das Blut sofort nach der Aspiration aus der Vene ohne jede Zwischenmanipulation eingespritzt worden, und von 24 so behandelten Personen erkrankten nicht mehr als 3, was 87,5 Proz. Versagern entspricht. Von dieser Ueberlegenheit des defibrinierten Blutes konnten sich Otto und Dietrich auch durch Peritonealversuche an Meerschweinchen überzeugen.

Was nun die Pathogenität für Versuchstiere anlangt, hat man zwei Dinge zu bedenken. Erstens, daß auch das Fleckfieber des Menschen eine klinisch schwer diagnostizierbare Infektion mit dürftigem und vieldeutigem Symptomenkomplex ist; das wird jeder bestätigen, der vor der Einführung der Roseolendiagnostik und der Weil-Felix-Reaktion viele sporadische Fälle untersucht hat, welche nicht einem einheitlichen Menschenmaterial entstammten, sondern nach Alter, Geschlecht, Rasse und sozialen Verhältnissen differierten; wenn in solchen Fällen der epidemiologische Zusammenhang auf die richtige Vermutung leitete, so war das eben — das ist für unsere Betrachtung wichtig — keine klinische, sondern eine epidemiologische Diagnose. Dasselbe lehrt uns die Geschichte des Fleckfiebers; Männer wie Fracastorius, v. Hildenbrand, Murchison, Botkin, Wunderlich, Griesinger mußten ungeheure Arbeit leisten, um dem Fleckfieber den Rang einer spezifischen Infektion zu erkämpfen, und immer wieder glückte es der Sophistik ihrer Gegner, die Ueberzeugung von der realen Existenz dieser Krankheitsentität ins Wanken zu bringen. Ganz denselben Leidensweg wie sein Paradigma durchmißt nun auch aus analogen Ursachen das Meerschweinchenfleckfieber. — Zweitens soll man berücksichtigen, daß das Fleckfieber je nach der Konstitution und Kondition der erkrankten Individuen alle denkbaren Abweichungen von dem typisch-zyklischen Verhalten, das wir durch Murchison, Wunderlich, Curschmann, Munk und Jürgens kennen lernten, zeigen kann. Das so variable Exanthem kann

ganz fehlen; das Fieber kann jede beliebige Dauer aufweisen, braucht aber auch gar nicht aufzutreten; die Störungen des Allgemeinbefindens sind bei Kleinkindern, zuweilen aber auch bei Erwachsenen so gering, daß die Erkrankung ambulatorisch überstanden wird. Als Belege zitiere ich nur die neueren Angaben von Elias, Bardachzi und Barabas, Popper, Salpeter und Schmitz, Starkenstein, Kollert und Finger, Löwy, Rosenberg, Ficaï, d'Astros und Rousla-croix, Felix, Gérard, Maurice Anrioud, Nicolle und Jean-neret-Minkine. — Keine Frage: es existiert eine Skala von Verlaufsarten, welche alle Varianten vom klassischen Krankheitsbild bis zur völlig latenten Infektion, bis zur „infection inapparente“, wie sie Nicolle genannt hat, umspannt. Von den Faktoren, welche die Schwere des Verlaufes beeinflussen, sind uns genauer bekannt: das Alter, die funktionelle Ueberbeanspruchung des Gehirnes, die Unterernährung und die Rasse, wobei ich in erster Linie an das mit der Brillischen Krankheit vermutlich identische Fleckfieber der russisch-polnischen Juden erinnern möchte.

Bei der weitgehenden Anpassung der Parasiten an bestimmte Wirte werden wir a priori nicht erwarten dürfen, daß das Fleckfieber bei experimentell infizierten Tieren prägnanter zum Ausdruck gelangt als beim Menschen; wir müssen uns vielmehr auf Gegenstücke zu den milderem, abortiven und [infolge der gewaltigen Unterschiede zwischen Menschen- und Tierhaut] exanthemlosen Formen gefaßt machen; wir werden endlich im Hinblick auf die Variationsbreite der Infektion beim Menschen nicht verlangen können, daß der Ablauf bei verschiedenen Individuen einer und derselben Tierspezies absolut gleichartig sei, sondern auch hier einen gewissen Spielraum konzedieren. Das ist nun aber gerade das, was wir de facto beobachten! Dabei hat Nicolle auf eine interessante Beziehung aufmerksam gemacht: die sukzessive Abschwächung, welche das Krankheitsbild durch das abnehmende Alter der Erkrankten innerhalb der Spezies Mensch erfährt, kann erzielt werden, wenn man den Infektionsprozeß in Tierarten von gradweise sinkender Empfänglichkeit ablaufen läßt. Sie finden diese Parallele bei Nicolle weitläufig kommentiert. Ich erwähne nur, daß das Fleckfieber der Anthropoiden, speziell der Schimpansen, und etwa noch des Ateles vellerosus am meisten dem exanthemlosen Fleckfieber des erwachsenen Menschen entspricht; die Infektionen von Macacus-Arten ähneln ebenso wie jene von Meerschweinchen einem rudimentären, exanthemlosen Kinderfleckfieber und die afebrilen, ganz symptomlosen Infektionen des Kaninchens und der Ratte, wie sie von Nicolle und seinen Mitarbeitern, sowie von mir und R. Pick beschrieben wurden, haben ihr Pendant in den „infections inapparentes“ der Neugeborenen.

Es ist somit kein Einwand gegen das Bestehen und den spezifischen Charakter des experimentellen Fleckfiebers, wenn man ihm Symptomen-armut und anomale Verlaufsformen vorwirft; das experimentelle Fleckfieber kann vielmehr nicht leichter diagnostizierbar sein als der Exanthematicus sine exanthemate beim Menschen. In dieses selbstverständliche Verhältnis hat erst die Entdeckung der Reaktion von Weil und Felix eine Aenderung hineingetragen. Beim Menschen begleitet sie auch leichte, abortive oder gar latente Erkrankungen und wird dadurch nach allgemeinem Zeugnis zum wertvollen und, von seltenen Ausnahmen (Croner, Sternberg, Anders, Montefusco, Jakobitz) abgesehen, verlässlichen Behelf. Das Serum fleckfieberinfizierter Meerschwein-

chen dagegen zeigt, das bedarf keiner Bestätigung mehr, keine agglutinierende Wirkung auf X 19-Suspensionen; wie sich in dieser Beziehung Affen verhalten, wurde bisher leider noch nicht untersucht, wäre aber mehr theoretisch, als versuchstechnisch von Belang.

Aus dem Fehlen der X 19-Agglutination beim Meerschweinchen hat man gefolgert, daß das mit verschiedenen Substraten (wie Fleckfieberblut, Blut oder Organemulsion von Passagetieren, Verreibungen infizierter Läuse) erzeugbare Fieber kein Fleckfieber sei. Denn wenn die Reaktion beim Menschen auftritt, so müsse sie auch bei jedem fleckfieberinfizierten Tier vorhanden sein. Da man jedoch vom Mechanismus der Reaktion gar nichts Sicheres weiß, ist dieser Schluß absolut unzulässig. Man kann nicht mehr behaupten, als daß der menschliche Organismus auf die Infektion mit der Produktion flockender Stoffe für X 19 antwortet, und demgemäß verlangen, daß die Reaktion wieder zum Vorschein kommt, wenn man das Virus vom serologisch negativen, aber spezifisch fiebernden Meerschweinchen auf den Menschen rücküberträgt. Solche Versuche wurden bisher nicht veröffentlicht; ich bin aber dessen sicher, daß sie das postulierte Resultat ergeben müssen — in jeder Beziehung. Interessanterweise teilten Weil und Felix vor kurzem mit, sie hätten eine analoge Kombination beobachtet; das Serum von Kaninchen, welche eine oder mehrere intraperitoneale Injektionen mit dem Gehirne fleckfieberinfizierter Meerschweinchen erhalten hatten, agglutinierte X 19 in der H-Form bis 1:500, in der O-Form bis 1:1000. Damit wäre erwiesen, daß im infizierten Meerschweinchen ein Agens existiert, welches zwar nicht in diesem Tiere, wohl aber in einer anderen reaktionsfähigeren Spezies die Bildung der flockenden Stoffe auslöst; obwohl die von Weil und Felix beigebrachten Kontrollen nicht völlig ausreichen, darf man doch vorderhand mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß dieses Agens nichts Anderes sei als der lebende, virulente Fleckfiebererreger.

Daraus erkennt man aber auch, daß das Zustandekommen der Reaktion von der besonderen Beschaffenheit der Tierart entscheidend beeinflusst wird, welcher man das virushaltige Material parenteral zuführt; eine einfache Antigen- oder Agglutinogenfunktion der Erregererelemente kommt in der flockenden Wirkung der Fleckfiebersera nicht zum Ausdruck. Russ und Kirschner erhielten durch intensive Immunisierung von Ziegen mit dem Gehirne fiebernder Meerschweinchen Sera, welche zwar deutlich virulizid waren, also die echten Fleckfieberantikörper enthielten, die aber mit den Aufschwemmungen von X 19 nicht stärker reagierten als vor Einleitung der Behandlung, obwohl die Ziege als guter Agglutininproduzent bekannt ist. Wie sich die von Nicolle dargestellten viruliziden Pferde- und Eselsera gegenüber X 19 verhielten, wurde nicht geprüft. Ueberhaupt wäre hier noch so manche Lücke auszufüllen. Untersuchungen, ob beim fleckfieberimmunen Menschen durch Injektion von lebendem Organ- oder Läusevirus die Weil-Felix-Reaktion hervorgerufen oder gesteigert werden kann, die Verwendung von abgetötetem Virus verschiedener Provenienz an gesunden oder immunen Menschen oder an Kaninchen zum gleichen Zwecke und anders mehr könnten schätzenswerte Aufschlüsse in vielen Belangen bieten, speziell auch darüber, ob es eine Weil-Felix-Reaktion ohne Infektion gibt oder ob hier Verhältnisse wie bei der Wassermann-Reaktion vorliegen. Experimente dieser Art sind derzeit im Hygienischen Institut in Basel im Gange.

Kehren wir zum Meerschweinchenfleckfieber zurück! Einen Beweis für seine Legitimität haben wir soeben kennen gelernt; existieren noch andere Argumente? Gewiß, und ich kann mich da, um oft Gesagtes nicht nochmals breitzutreten, kurz fassen. Hierher gehört: 1) die Tatsache, daß diese Fieberbewegung mit allen Substraten regelmäßig hervorgerufen werden kann, in welchen die Existenz lebender Fleckfieberkeime konstatiert ist, wie z. B. mit Fleckfieberblut oder in welchen sie mit Recht angenommen werden darf wie mit dem Blute und den zerriebenen Organen infizierter Säugetiere oder mit Emulsionen aus infizierten Kleiderläusen. Zu diesen Stoffen, mit welchen man die fragliche Fieberreaktion bei Meerschweinchen provozieren kann, zählt nach den Untersuchungen von Nicolle, Blanc und Conseil, Müller und Urizio, Doerr und Schnabel auch der Kot infizierter Läuse. Aus der Vielheit und Verschiedenheit der Substrate erhellt, daß sie nicht als solche pyrogen wirken können, sondern durch ihren Gehalt an lebenden Infektionskeimen; das ergibt sich ferner aus den minimalen Quantitäten, welche erforderlich sind und bei Passageblut, Organ- oder Lausemulsionen auf Dezimilligramme herabsinken (Landsteiner und Hausmann, da Rocha-Lima, Nicolle); tötet man schließlich die Mikroben auf irgendeine Art ab, so wird damit auch die fiebererzeugende Fähigkeit vernichtet, wofür schon die Arbeiten von Gaviño und Girard, Anderson und Goldberger ausreichende Belege enthalten. 2) Das Fieber der Meerschweinchen ist auf Affen, auf andere Meerschweinchen, auf Kaninchen und Ratten übertragbar und kann auf diese Art beliebig lange im Tiere fortgezüchtet werden. In seiner letzten Mitteilung berichtet Nicolle über eine 5-jährige Kultur in vivo = 175 Passagen. 3) Die Fieberbewegung immunisiert aktiv gegen eine erneute Infektion genau so wie der Mensch nach dem Ueberstehen des Fleckfiebers eine absolute und langdauernde Immunität nicht nur gegen die natürliche Ansteckung, sondern wie Doerr und Starkenstein zeigten, auch gegen die Einspritzung massiver Dosen Fleckfiebervirus erwirbt. Im Tierexperiment erweisen sich dabei die verschiedensten virushaltigen Substrate als immunisatorisch gleichwertig, d. h. das Fieber nach einer Injektion von Fleckfieberblut schützt das Meerschweinchen gegen den pyrogenen Effekt einer virulenten Lausemulsion und umgekehrt, ein weiterer Beweis, daß das Fieber auf eine gemeinsame spezifische Komponente der injizierten Substrate zu beziehen ist und nicht als aspezifisches Proteinfieber aufgefaßt werden kann. 4) Gesellt sich dazu der Nachweis jener herdförmigen, perivaskulären Zellanhäufungen, welche ihren Ausgang von Endothelerkrankungen kleiner Gefäße nehmen, und ein komplettes Analogon zu den histologischen Veränderungen bilden, welche Fränkel, Ceelen, Jaffé u. a. in den Organen von Fleckfieberleichen beobachten konnten. Beim Meerschweinchen ist ihre Existenz von Löhlein, Otto und Dietrich, Doerr und Kirschner, Kuczynski, K. Nicol, Grzywo-Dabrowski u. a. bestätigt worden.

Berücksichtigt man, daß alle bisher angeführten Befunde und Behauptungen mit einem ganz außergewöhnlichen Tieraufwand und von den verschiedensten Experimentatoren nachgeprüft und verifiziert wurden, so darf die Streitfrage, ob Meerschweinchen mit Fleckfieber infiziert werden können, als im positiven Sinne erledigt gelten. In diesem Punkte ist die oppositionelle Haltung von Friedberger und Zlocisti unbegründet. Anders liegt aber die Situation, wenn man die versuchstech-



nische Brauchbarkeit und die Eindeutigkeit des Meerschweinchenfiebers zur Diskussion stellt. Nehmen wir zunächst an, es würden keine groben Fehler hinsichtlich der Wartung der Tiere, ihres Aufenthaltes in einer gleichmäßig temperierten, warmen Luft, der aseptischen Kautelen bei den Injektionen und vornehmlich bei der analen Messung der Körpertemperatur gemacht, von der nach Nicolles Ausspruch nur wenige Leute etwas verstehen und die man keinesfalls einem Laboratoriumsdiener überlassen sollte. Wie sehen dann bei Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln die Temperaturkurven aus? Gibt es typische Fieberreaktionen oder nicht? Diese Frage darf ich wohl auf Grund meiner Erfahrung ohne Zögern bejahen. Der Typus ist durch eine mindestens 5-tägige, maximal 21-tägige Inkubation, einen raschen Temperaturanstieg auf 39,8 bis 41° C, eine 4—11-tägige Fieberdauer und einen staffelförmigen Abfall ausgezeichnet und findet sich in einem sehr hohen Prozentsatz bei vorher ganz normalen Tieren, denen man Passagevirus intraperitoneal oder intrazerebral einspritzt. Nach Passagevirus sind auch die Inkubationszeiten konstant und dabei kurz, so daß Nicolle den Ausdruck „virus fixe“ gebraucht, eine Bezeichnung, vor deren präjudizierlichen Bedeutung ich eindringlichst warne.

Den typischen stehen jedoch leider zweifelhafte Reaktionen gegenüber, welche sich bei Tieren, die schon vorher einen Eingriff irgendwelcher Art mitmachen mußten, häufen können. Sie weichen von dem Typus durch abnorme Inkubationen (weniger als 5 Tage), durch kurze Dauer (weniger als 4 Tage), durch zu niedrige Maxima (unter 39,5° C) oder durch starke Intermissionen ab. Ferner berechtigt das gänzliche Ausbleiben der Fieberbewegung durchaus nicht zu dem Schlusse, daß das betreffende Tier nicht infiziert wurde; wie Nicolle wiederholt nachwies, kann hier eine latente, afebril verlaufende Infektion bestehen. Nach Nicolle und Lebailly soll es sogar bis zu einem gewissen Grade in der Hand des Experimentators liegen, solche symptomlose Infektionen zu erzeugen, indem man sich minder wirksamer Uebertragungsmethoden (z. B. der intramuskulären Virusinjektion) bedient.

Andere klinische Erscheinungen als Fieber bieten die infizierten Meerschweinchen nicht dar; alles, was darüber mitgeteilt wurde, ist, sofern es überhaupt mit der Infektion zusammenhängt, inkonstant, für die Deutung der Versuche wertlos.

Und so gelangt man, falls man kritisch und gewissenhaft genug ist, von selbst zu der ebenso unangenehmen wie a priori verständlichen Konsequenz: die Fieberbewegung allein genügt, selbst wenn sie dem Typus entspricht, nicht, um das Vorhandensein oder das Fehlen der Fleckfieberinfektion beim Meerschweinchen in jedem Einzelfalle aus dem Bereiche der Vermutung oder Wahrscheinlichkeit in jenes der Gewißheit zu rücken. Das Fieber muß vielmehr durch alle negativen und positiven Kriterien definiert resp. agnosziert werden; man muß mit einem Worte den generellen Beweis für die spezifische Natur des Meerschweinchenfleckfiebers in jedem speziellen Falle wiederholen. Es sind somit festzustellen: 1) die Uebertragbarkeit; 2) die spezifisch immunisierende Wirkung; 3) der histologische Befund im Zentralnervensystem; 4) der negative makroskopische Sektionsbefund, um Eiterungen, Peritonitis, Pneumonie, Pseudotuberkulose etc. auszuschließen; 5) endlich auch die Fähigkeit des virushaltigen Gehirnes, beim intraperitoneal infizierten Kaninchen die Produktion von X19-Agglutininen anzuregen. Die letzt-



genannte Probe, welche Weil und Felix in ihrer neuesten Publikation kurz als „Kaninchenversuch“ bezeichnen, könnte, wie leicht einzusehen, an Wert gewinnen und in der Folge die anderen aufgezählten Kriterien in den Hintergrund drängen oder ganz überflüssig machen. Weil und Felix meinen, daß der Rückübertragung vom Meerschweinchen auf das Kaninchen die Dignität eines Menschenversuches zukomme, was ohne Rückhalt zugegeben werden muß, wenn diese neue Reaktion konstant, empfindlich und für lebendes Fleckfiebertvirus spezifisch oder absolut charakteristisch ist. In den ersten beiden Richtungen teilen Weil und Felix selbst sehr zufriedenstellende Ergebnisse mit; in ihren Versuchen ergab schon die einmalige intraperitoneale Injektion von Meerschweinchengehirn höchst selten Versager, die Sera der Kaninchen agglutinierten die O-Form meist in beträchtlicher Verdünnung und die Agglutininproduktion ließ sich schon durch minimale Dosen virushaltigen Materials erzwingen (0,001—0,05 Gehirn). Aber es existieren auch gegenteilige Angaben, z. B. die von Doerr und R. Pick, welche durch einmalige intraperitoneale, intravenöse, subkutane oder intrazerebrale Injektion von Kaninchen mit dem virulenten Hirnbrei von Passagemerschweinchen keine höheren Agglutinititer für X19 bekamen als 1:20; ganz dieselben Erfahrungen machten neuerdings Russ und Kirschner bei wiederholter intraperitonealer Injektion von drei Kaninchen. Die sehr erwünschte Vereinfachung und die gesicherte Deutung der Fleckfieberexperimente wird somit von der Nachprüfung der bemerkenswerten Arbeiten von Weil und Felix abhängen; eine wesentliche Verbilligung der kostspieligen Versuchsanordnungen würde sich allerdings auch auf diesem Wege nicht erreichen lassen. Bis auf weiteres sind jedenfalls auch die 4 zuerst aufgezählten Eigenschaften des Meerschweinchenfleckfiebers festzustellen.

Das Schema, nach welchem dies bei jedem einzelnen Tier möglich gemacht wird, habe ich und Kirschner in Nr. 36 der Med. Klinik von 1919 angegeben. Das Wesen desselben besteht darin, daß man das Versuchstier rechtzeitig tötet und nach Erhebung des negativen Sektionsbefundes mit den Organemulsionen Uebertragungen auf andere Meerschweinchen ausführt; gehen letztere an, so gewinnt man Material für alle anderen Untersuchungen. Der Vorteil der Methode liegt in dem Umstande, daß sie das Kriterium der Uebertragbarkeit in den Vordergrund stellt, aber auch alle anderen Eigenschaften berücksichtigt und durch Prüfung derselben an mehreren Tieren den individuellen Faktor eliminiert. Latente Infektionen sind natürlich nur zu erkennen, indem man sie durch geeignete Passagen in manifeste transformiert.

Dieser Weg ist sehr kompliziert und mühevoll, aber bei Experimenten, welche über die einfache Fortzüchtung in vivo hinausgehen, nicht zu umgehen. Friedberger hält übrigens auch von den Garantien, die auf diese Art erzielt werden, nichts, da ja doch schließlich alles wieder auf Fieberreaktionen hinauslaufe. Das ist unrichtig. Abgesehen davon, daß auch histologische und serologische Momente herangezogen werden, ist es nicht dasselbe, ob ich aus der Fieberkurve eines Tieres einen Schluß ableite oder ob ich das Fieber mehrere komplizierte Bedingungen erfüllen lasse, bevor ich mich zu einer Aussage über seine Natur entschieße.

Als Resumé erfließt folgende Betrachtung: Es ist richtig und mehrfach bewiesen, daß die morphologische Kenntnis der Erreger und ihre Reinzüchtung im Reagenzglas keine unerläßlichen Vorbedingungen für die

Erforschung der Infektionskrankheiten bilden, sondern daß sich mit Hilfe der spezifischen Pathogenität eine Reihe der wichtigsten Tatsachen ermitteln läßt. Technisch bequem und in der Deutung zuverlässig ist aber dieses funktionelle Merkmal der Krankheitskeime nur dann, wenn es im Tierversuch konstant und prägnant zum Ausdruck gelangt; das trifft nun beim Fleckfiebertypus nicht ganz zu, und so hat hier die Frage nach dem mikroskopischen Nachweis der Erreger ihre Bedeutung als Arbeitsmethode stärker bewahrt als anderwärts.

Daß dieser Nachweis erbracht werden kann, ist bekanntlich an die Vorbedingung geknüpft, daß die betreffenden Keime nicht in die Gruppe der invisiblen, ultramikroskopischen Vira gehören, daß sie also die gebräuchlichen Filter nicht passieren. Da Rocha-Lima hat aus der umfangreichen Literatur dieses Kapitels und an der Hand eigener Erfahrungen gezeigt, daß es bisher kein einziges Mal einwandfrei geglückt ist, mit filtrierten virushaltigen Substraten Infektionen zu erzeugen. Das einzige, im gegenteiligen Sinne gedeutete Experiment von Nicolle läßt auch eine andere Interpretation zu und ist dadurch entwertet, daß sich dieser Autor durch drei spätere Versuche überzeugen konnte, daß das Virus aus infizierten Läusen *de facto* nicht einmal leicht permeable Kerzen passiert. Nicolle spricht nunmehr selbst in abfälligem Tone vom Dogma der Invisibilität des Fleckfiebertypus.

Wir dürfen somit ein mikroskopisches Gebilde erwarten und suchen. Handelt es sich bei derartigen Befunden um isolierbare Bakterien, so werden wir fordern, daß sie ihre ätiologische Beziehung zum Fleckfieber durch jene Pathogenität dokumentieren, welche den zweifellos virushaltigen Stoffen, speziell dem Fleckfieberblut eignet. Sie müssen also beim Meerschweinchen die typische, unbegrenzt überimpfbare, spezifisch immunisierende Fieberreaktion hervorrufen, sie müssen bei dieser Tierspezies die charakteristischen histologischen Veränderungen im Gehirn erzeugen; voll befriedigt werden wir uns jedoch erst erklären, wenn die Kette durch den konstanten und ausschließlichen Nachweis in der infizierten Kleiderlaus zum Ring gefügt ist. In diesen Punkten versagten aber alle bisher beschriebenen Bakterien, der *Bacillus typhi exanthematici* von Plotz nicht minder wie die X-Stämme von Weil und Felix oder die Diplobazillen von Hoogenhuyze u. m. a.

Behaupten konnte sich nur die *Rickettsia prowazekii*, ein in der Kleiderlaus entdeckter Parasit, dessen bakterielle Natur an Wahrscheinlichkeit stetig gewinnt. Die von da Rocha-Lima mit großer Zurückhaltung geäußerte Vermutung, es könnte sich hier um den so lange gesuchten Fleckfiebererreger handeln, gründete sich zunächst auf die unter verschiedenen natürlichen und experimentellen Bedingungen zutage tretende Koinzidenz zwischen Rickettsiengehalt der Kleiderläuse und ihrer Infektiosität, soweit sich diese im Meerschweinchenversuch durch intraperitoneale Injektion der zerriebenen Insekten feststellen ließ. Dieser Parallelismus war jedoch kein durchgängiger und die Hypothese erlitt daher einen argen Stoß, als Rickettsien auch in Läusen von Wolhynikern, Nephritikern und gesunden Menschen sowie in der Schaflaus (*Melophagus ovinus*) gefunden wurden. So konnte beispielsweise E. Brumpt bei 72 Läusen, welche von vollkommen gesunden Kriegsgefangenen in Rennes gesammelt worden waren, nicht weniger als 53mal Rickettsien nachweisen und leugnet daher ihre ätiologische Rolle entschieden. Aber da Rocha-Lima zeigte an Paraffin-

schnitten, die nach Giemsa gefärbt waren, daß man nach den morphologischen Details, nach dem tinktoriellen Verhalten und namentlich nach den eigentümlichen Lagebeziehungen zum Wandepithel des Lausdarmes drei Rickettsienkategorien unterscheiden könne: die *Rickettsia Pro-wazeki*, die *Rickettsia melophagi* und die *Rickettsia pediculi*. Die beiden ersten Namen sollten den biologischen Wert von Speziesbezeichnungen haben, der dritte eine vorläufig nicht in Arten zerlegbare Untergruppe repräsentieren. Die Spezifität der *Rickettsia melophagi* erhielt noch eine weitere Stütze durch ihre von Nöller realisierte Reinkultur; bei den anderen Rickettsien glückte die Züchtung anfänglich nicht, aber die Ergebnisse bei der Schaflausrickettsie blieben für sie insofern nicht irrelevant, als man jetzt kaum mehr zweifeln konnte, daß sie Mikroorganismen und nicht etwa irgendwelche Zellgranula seien. Nachgeprüft wurden die Angaben von da Rocha-Lima wegen der schwierigen Technik, zum Teil auch wegen Materialmangel nicht; die Originalpräparate, welche mir da Rocha-Lima freundlichst lieh, bestätigen jedoch seine Ausführungen vollinhaltlich — falls sie regelmäßigen Befunden und nicht Extremen entsprechen, deren differentialdiagnostischer Wert durch fließende Uebergänge aufgehoben wird. Wenn aber auch die Rickettsie der Fleckfieberläuse mikroskopisch von anderen Rickettsien nicht abgegrenzt werden könnte, so läge darin — wie da Rocha-Lima mit Recht betont — kein Grund, ihr den Charakter des Fleckfiebererregers definitiv abzusprechen. Es bliebe noch immer die experimentelle Erzeugung der Rickettsien durch Fütterung der Läuse an Fleckfieberkranken, ihr Fehlen nach Fütterung mit Rekonvaleszentenblut, die Rickettsienfreiheit und Nicht-infektiosität in der Reifungsperiode etc., Beziehungen, welche nicht nur durch Angaben von da Rocha-Lima, sondern auch durch Töpfer, Töpfer und Schüssler, Nöller, Otto und Dietrich, Jungmann und Kuczynski und durch die Berichte des Service Sanitaire officiel de Hollande 1917 (zit. nach Gérard) so weit gesichert erscheinen, daß man für die schroffe Ablehnung der *Rickettsia Pro-wazeki* ohne gründliche Nachprüfung kein Verständnis aufbringen kann. Dialektisch werden sich diese Dinge nicht erledigen lassen.

In den Speicheldrüsen infizierter Läuse konnte selbst die virtuose Technik einer H. Sikora keine Rickettsien nachweisen, obwohl es ungeachtet der Infektiosität frischen Läusekotes doch höchst wahrscheinlich ist, daß der Uebergang des Virus auf den Menschen durch den Biß der Laus vermittelt wird und obwohl die Zoologen eine Regurgitation von Mageninhalt aus anatomischen Gründen für unwahrscheinlich erklären. Hier könnte sich indes bei besserem Einblick noch immer ein Ausweg eröffnen. Was aber unter allen Umständen gefordert werden muß, ist der Nachweis von Rickettsien im Organismus fleckfieberkranker Menschen und experimentell infizierter Laboratoriumstiere. Gerade auf diesem Gebiete werden nun Ergebnisse mitgeteilt, welche einen enormen Fortschritt bedeuten würden, wenn sie allgemein bestätigt und hinsichtlich ihrer Methodik soweit vereinfacht werden könnten, daß sie ein Werkzeug zur Lösung neuer Fragestellungen bilden.

Ich meine zunächst die Arbeiten von Kuczynski, Kuczynski und Jaffé sowie die davon unabhängigen von Wolbach und Tood, welche sich auf Tabardillomaterial beziehen. In Paraffinschnitten aus Fleckfieberorganen, die nach Giemsa oder gewissen Modifikationen der Giemsa'schen Technik gefärbt waren, fanden sich Gebilde, welche stets

in Kapillarendothelien lagen, von einer hofartigen Aufhellung des Protoplasmas der Wirtszelle umgeben waren, die Hantel- oder Diploform der Läuse-*Rickettsien* aufwiesen und letzteren auch nach Größe und Farbnuance völlig glichen. In der Leber waren die befallenen Endothelzellen mehr diffus über das Parenchym zerstreut; wo sich dagegen die charakteristischen perivaskulären Zellaggregate bilden, wie im Gehirn infizierter Menschen oder Meerschweinchen oder in den Effloreszenzen der Haut (Wolbach und Tood), da lagen die *Rickettsia*-formen gerade in einer Endothelzelle des zentralen präkapillaren Gefäßes und diese Endothelzelle war gequollen, desquamiert und bot das Bild der fortschreitenden Nekrose in ihren verschiedenen Stadien. Zwischen den Befunden von Kuczynski und jenen von Wolbach und Tood besteht scheinbar eine Differenz: im Gehirne sah man im Zytoplasma einer Endothelzelle nur eine einzige, höchst selten zwei *Rickettsien*, während in den Haut-effloreszenzen des Tabardillo ganze Haufen der fraglichen Gebilde von einer Zelle phagozytiert waren. Vielleicht ist jedoch die Verteilung wirklich ungleichmäßig; in den Kupferschen Sternzellen der menschlichen Leber beobachtete ja auch Kuczynski die Anordnung der *Rickettsien* in intrazellulären Klumpen. Da beim Tabardillo nur die Haut, beim europäischen Fleckfieber nur die Innenorgane untersucht wurden, erscheint derzeit eine Aussage unmöglich. Eine hochgradige Anreicherung des Virus im Wandbelag der Hautgefäße im Sinne des von Lipschütz angenommenen Dermotropismus wäre jedenfalls auch teleologisch für die Erleichterung der Virusaufnahme durch die Laus verständlich.

Kuczynski und Jaffé zögern nicht, die intrazellulären Diploformen mit der *Rickettsia prowazeki* zu identifizieren. Wolbach und Tood wollen über ihre Beziehung zur *Rickettsie* der Fleckfieberläuse kein Urteil abgeben, halten aber die von ihnen beschriebenen und abgebildeten Körperchen doch auch für Parasiten; sie meinen, daß dieselben den analogen Gebilden des Rocky Mountain Spotted Fever verwandt sind und schlagen die wohl ganz überflüssige neue Bezeichnung *Dermacentroxenus typhi* vor. Gewitzigt durch Erfahrungen, über welche auch die Fleckfieberliteratur zu berichten weiß, wird man sich das Recht auf Nachprüfung und abwartende Haltung nicht nehmen lassen. Prinzipielle Skepsis wäre aber kontraindiziert, da morphologische Gründe gegen die Identifizierung mit *Rickettsien* nicht existieren, und da die Lagerung im geschädigten Gefäßendothel der Fleckfieberknötchen für die pathogene Bedeutung der intrazellulären Diploformen spricht; diese Lagebeziehung bringt sogar eine nachträgliche Bestätigung der Theorie von Herzog, welche nur auf das histologische Bild basiert war und die Ursache für das Entstehen der charakteristischen Zellherde in einer durch hämatogene Noxen herbeigeführten Endothelnekrose erblickte.

Der mikroskopische Nachweis im Gewebe steht überdies heute nicht mehr isoliert da: Kuczynski hat ihn durch die Reinkultur zu ergänzen gesucht und sich trotz großer Schwierigkeit den Weg zu Ergebnissen gebahnt, deren ausführlicher Mitteilung mit Spannung entgegengesehen werden darf. Sie wissen, daß man die *Rickettsia melophagi* relativ leicht in dem von Nöller angegebenen Traubenzuckerblutagar züchten kann, ja daß vielleicht auch ein Repräsentant aus der Gruppe der *Rickettsia pediculi* in Ascitesagar zur Vermehrung gebracht wurde, obwohl die betreffende Angabe von Werner und Benzler nicht eindeutig ist; die Kultivierbarkeit der *Rickettsien* war daher schon vor Kuczynski

grundsätzlich entschieden. Da aber einfache Methoden wie die erwähnten bei der Fleckfiebrickettsie versagten, stellte sich Kuczynski, von interessanten theoretischen Erwägungen geleitet, eine besondere Nährlösung her, welche aus Hirudin- oder Zitratplasma (vom Menschen oder Meerschweinchen) bestand, dem im Verhältnis von 2:7 hydrolytisch abgebautes Menschenblut zugesetzt wurde. 9 Teile dieser Nährflüssigkeit vermengte Kuczynski mit 1 Teil fein verriebenen, in Ringer-Lösung emulgierten Gehirnes von fleckfieberinfizierten Meerschweinchen, füllte das Gemisch in Celloidinsäckchen, verschloß letztere nach der Methode von Schmitz und versenkte sie in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Als Kontrollen dienten dieselben, aber im Reagenzglas aufbewahrten Gemenge, bei welchen also nur die Möglichkeit des Stoffaustausches zwischen Kulturmedium und freier Peritonealflüssigkeit ausgeschaltet war. Diese Kontrollen büßten ihre Virulenz nach längstens 48 Stunden völlig ein und ergaben mikroskopisch Befunde, welche keine morphologischen Einzelheiten erkennen ließen. Wurden dagegen die Säckchen nach 3–10 Tagen aus der Bauchhöhle entfernt, so vermochte ihr Inhalt auf Meerschweinchen spezifisch pathogen zu wirken: die damit inokulierten Tiere fieberten nach 4–18-tägiger Inkubation typisch, zeigten den charakteristischen Knötchenbefund im Gehirn und wurden nach dem Ueberstehen des Fiebers gegen Passagevirus immun. Mit dem Gehirne der durch Kulturvirus infizierten Meerschweinchen konnten neue Züchtungen in Kollodiumsäckchen angelegt werden; ebenso glückte die Ueberimpfung des Säckcheninhaltes auf neue Säckchen, also die zweite direkte Nährbodenpassage ohne Einschaltung einer Meerschweincheninfektion.

In allen Fällen aber, in denen die Prüfung des Säckcheninhaltes im Meerschweinchenversuch ergab, daß das eingesäte Fleckfiebertvirus lebend und virulent geblieben war, lieferten auch die mikroskopischen Präparate nach intensiver Giemsa-Färbung und bei der Durchmusterung mit leistungsfähigen Linsen eigentümliche Bilder, bestehend aus einer ungeheuren Menge kleinster azurroter Einzelkörnchen, neben welchen vereinzelt Diploformen, Ovoide und Kokkobazillen zu beobachten waren. Morphologisch glichen die Formelemente den Rickettsien der Fleckfieberläuse und erinnerten auch sehr an die Gestalt der Schaflausrickettsien im Kulturausstrich. Kuczynski hält ihre Identität mit der *Rickettsia prowazekii* für erwiesen, deren ätiologische Bedeutung als Fleckfiebererreger nach Erfüllung sämtlicher von J. Henle und R. Koch formulierten Postulate endgültig außer Zweifel gestellt sei. Wir wollen hoffen, daß wir uns dieser Ansicht in kurzer Zeit ohne Vorbehalt anschließen dürfen, sobald exakte Versuchsprotokolle publiziert und bestätigende Resultate von anderer Seite erzielt sein werden. Ich betone übrigens, daß ich den Inhalt der Abhandlung Kuczynskis über „die Kultur der *Rickettsia prowazekii* aus dem fleckfieberkranken Meerschweinchen“ nur skizzieren konnte, und daß die Lektüre des Originals unabweislich ist. Ich vermag von den vielen bedeutsamen Einzelheiten nur noch zwei hervorzuheben. Nämlich erstens, daß Kuczynski seine Rickettsienkulturen aus Meerschweinchenorganen (Milz, Leber) bereits anlegen konnte, wenn die Tiere sich noch in der Inkubation befanden, was gut mit den tierexperimentellen Untersuchungen stimmt, welche ich und R. Pick sowie Gamaleia über das Erscheinen und Verschwinden des Virus im Körper des infizierten Meerschweinchens angestellt haben. Zweitens gibt Kuczynski an, daß die Züchtung in heterologem Men-

schenplasma die Inkubationszeit der mit den Kulturen infizierten Meerschweinchen bedeutend verlängere; in homologem Plasma gewachsenes Virus sei durch eine kürzere Latenzperiode charakterisiert. Das wäre natürlich eine sehr plausible Erklärung für die kurzen Inkubationen nach Infektion mit Passagevirus (auch mit Virus der 1. Passage) gegenüber den langen Intervallen, nach denen das Fieber auftritt, wenn man Fleckfieberblut vom Menschen dem Meerschweinchen injiziert; es böten sich hier auch Aussichten, dem alten und ungelösten Problem der Inkubation näherzutreten, was Kuczynski selbst in einem wesentlich anderen Zusammenhang andeutet. Ich verfüge jedoch über Beobachtungen, auf die ich mich hier nicht einlassen kann, die mich bestimmen, die Theorie von der Verlängerung der Inkubation durch Züchtung in heterologem Plasma, so bestechend sie erscheinen mag, abzulehnen. Desgleichen rate ich zur Vorsicht, wenn man Beziehungen zwischen Inkubation und einverleibter Virusmenge konstruieren will; die Relation existiert, wie nicht anders zu erwarten, aber sie wird von einer Anzahl von Faktoren beherrscht, die wir nur mangelhaft kennen. Darüber werde ich mit Kirschner an anderer Stelle Mitteilung machen.

Gestatten Sie, meine Herren, noch einige kurze Hinweise auf die Fleckfieberimmunität. Die gesicherten Kenntnisse über dieses spezielle Thema können ja leider mit ein paar Sätzen abgefertigt werden, denen man folgende Fassung geben darf: 1) Das Ueberstehen der Infektion hinterläßt eine absolute Immunität sowohl beim spontan erkrankten Menschen wie bei den experimentell infizierten Tieren. Der durchseuchte Mensch ist nicht nur gegen die natürliche Ansteckung, sondern auch gegen die subkutane Injektion massiver Dosen Passagevirus refraktär (Doerr und Starkenstein). 2) Im Verlaufe der Infektion gewinnt das Blutserum beim Menschen, Affen und Meerschweinchen virulizide Eigenschaften; ähnliche Sera lassen sich durch Immunisierung von Pferden, Eseln (Nicolle und Blaizot) oder Ziegen (Russ und Kirschner) mit virulenten Meerschweinchenorganen darstellen. Ob die parenterale Zufuhr von abgetötetem Virus dem Serum gleiche Kräfte verleiht, ist nicht geprüft worden. Virulizide Sera schützen empfindliche Tiere gegen die Infektion, wenn sie mit Virus gemischt oder getrennt und gleichzeitig oder prophylaktisch oder postinfektionell einverleibt werden. 3) Die aktive Immunität nach dem Ueberstehen der Infektion kann nicht humoral erklärt werden, da die Virulizidie des Serums bald schwindet, die Immunität dagegen sehr lange anhält.

Was darüber hinausgeht, ist entweder terra incognita oder strittiges Gebiet. Zum Teil sind die bestehenden Unklarheiten durch die lückenhaften Daten über die erworbene Immunität des Menschen begründet. Wir wissen nichts Zuverlässiges über ihre Dauer, über Unterschiede im refraktären Verhalten, welche von der Schwere der Krankheit oder vom Alter und von der Rasse des durchseuchten Individuums, oder von der Länge des Zeitintervalles abhängen, welches seit der immunisierenden Infektion verstrichen ist. Epidemiologische Erfahrungen, denen erst seit Einführung der Reaktion nach Weil-Felix ein Wert beizumessen ist, werden die nötigen Aufschlüsse kaum vor Ablauf von zwei Dezennien liefern, und es wäre daher eine Beschleunigung durch Versuche an fleckfieberimmunen Aerzten willkommen. Denn schon die eine Frage, ob leichte Infektionen immunisieren, und in welchem Grade, erscheint mir von größter Tragweite; von ihrer Beantwortung hängt meines Erachtens derzeit die Möglichkeit einer Schutzimpfung gegen Fleckfieber ab, und

in zahlreichen Drossel- und einigen Rabenarten gefundenen Bandwurm. Aus Fuhrmanns großer Cestodenarbeit (1908) ersehe ich nachträglich, daß nach L. Cohn der von Dujardin als *T. angulata* Rud. 1809 angeführte Bandwurm synonym mit *T. undulata* Rud. 1809 und *T. undula* (Schrank 1788) ist. Dujardin hat diesen Bandwurm häufiger bei Drosseln angetroffen; er schreibt darüber: „J'ai trouvé fréquemment ce *Ténia* à Rennes dans le merle (*Turdus merula*), dans la grive (*Turdus musicus*) et dans la draine (*Turdus viscivorus*)“. Der Wirtswechsel der *Dilepis undula* (Schrank) scheint nunmehr aufgeklärt zu sein: Drosseln und Raben nehmen die Zystizerken mit Regenwürmern auf, letztere infizieren sich mit dem durch die Vogelexkremente überall im Humus verbreiteten Onkosphären. Zur völligen Sicherstellung des Sachverhaltes wäre natürlich noch der Fütterungsversuch erwünscht. Ich werde einen solchen anstellen, wenn ich wieder in den Besitz infizierter Regenwürmer gelangen sollte. Vielleicht tragen diese Zeilen dazu bei, daß auch von anderer Seite bei Gelegenheit zootomischer Kurse oder sonst auf Zystizerken im Regenwurm geachtet wird und event. Fütterungsexperimente angestellt werden.

#### Schriftenverzeichnis <sup>1)</sup>.

- 1) Braun, M., Cestodes. (Bronns Klassen u. Ordn. d. Tierreich. Bd. 4. 1b. Vermes, Leipzig 1894–1900.) — 2) Ders., Die tierischen Parasiten des Menschen. 5. Aufl. 1915. — 3) Dujardin, F., Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux, Paris 1845. — 4) Fuhrmann, O., Die Cestoden der Vögel. (Zool. Jahrb. Suppl. X. 1908.) — 5) v. Linstow, O., Compendium der Helminthologie, Hannover 1878. Nachtrag dazu 1889.

Nachdruck verboten.

## Das Männchen von *Cylicostomum ultrajectinum*.

Von J. E. W. Ihle, Tierärztliche Hochschule, Utrecht.

Mit 2 Abbildungen im Text.

In „Tijdschr. v. Diergeneesk.“ Deel 47, p. 279 und in dieser Zeitschrift (Bd. 85. S. 269) beschrieb ich ein einziges, im Dickdarm des Pferdes aufgefundenes Weibchen einer neuen *Cylicostomum*-Art, welche ich *C. ultrajectinum* genannt habe. Herr Dr. A. Kotlán (Budapest), der diese Art ebenfalls in seinem Material auffand, war so freundlich, mir 2 Männchen und 2 Weibchen zuzusenden, wofür ich ihm meinen verbindlichsten Dank sage. Ich bin also jetzt in der Lage, meine ursprüngliche Beschreibung zu vervollständigen.

Das größte Männchen ist ungefähr  $12\frac{1}{2}$  mm lang; maximale Dicke 580  $\mu$ . Die beiden Weibchen sind bedeutend größer als das erstbeschriebene Exemplar; das größte ist ca. 17 mm lang, maximale Dicke 940  $\mu$ . Beide Exemplare sind in der Region der Vulva mit dem bei der Kopulation vom Männchen gebildeten Sekretionsprodukt versehen.

Von einem der Männchen habe ich das Vorderende abgeschnitten, um die Mundöffnung mit ihrer Umgebung von vorn betrachten zu können.

1) Vollständige Literatur bei O. Fuhrmann (1908).

Die äußere Blätterkrone dieses Exemplars besteht aus 12 sehr großen Elementen. Von der inneren Blätterkrone, welche aus ungefähr 46 Elementen besteht — welche Zahl aber nicht ganz genau ist — sind 12 Elemente verlängert. Ihre scharfen Spitzen nähern sich dem Mittelpunkt der Mundöffnung weit mehr als die Elemente der äußeren Blätterkrone. Zwischen 2 verlängerten Elementen der inneren Krone finden sich 2—4 normale.

Wegen der ungleichen Größe der Elemente der inneren Blätterkrone wäre ich geneigt, diese Art in eine besondere Gattung zu stellen, hätten wir nicht innerhalb der Gattung *Poteriostomum* 2 nahe verwandte Arten, von welchen die eine (*P. imparidentatum*) 6 verlängerte Elemente in der inneren Blätterkrone hat, während bei der anderen (*P. Rätzii*) alle Elemente dieser Krone gleich groß sind.

Bei dem Männchen von  $12\frac{1}{2}$  mm Länge ist der Oesophagus  $690\ \mu$  lang, bei dem 17 mm langen Weibchen ca.  $800\ \mu$ .

Die breite Bursa copulatrix hat einen ziemlich kurzen medianen Lappen (Fig. 1). Der Abstand von der Spitze des Hauptastes der dorsalen Rippe bis zur Ursprungsstelle der externo-dorsalen Rippe beträgt  $650\ \mu$ . Die Rippen der Bursa zeigen nichts Auffälliges (Fig. 2). Der Winkel zwischen der externo-lateralen und der medio-lateralen Rippe ist bedeutend kleiner als der Winkel zwischen der medio-lateralen und der postero-lateralen Rippe. Außerdem enden beide letztgenannten Rippen am Rande der Bursa, während das Ende der externo-lateralen Rippe weit vom Rand der Bursa entfernt ist.

Der sehr breite Genitalkonus trägt einen stark entwickelten Dermalkragen mit sehr langen präbursalen Papillen. Die ventrale Seite des Konus zeigt eine durch das Vorhandensein von feinen Furchen verursachte Querstreifung. Anhänge am Genitalkonus scheinen zu fehlen.

Das Hinterende der Weibchen entspricht der Hauptsache nach der von mir gegebenen Beschreibung. Im Gegensatz zu dem von mir be-

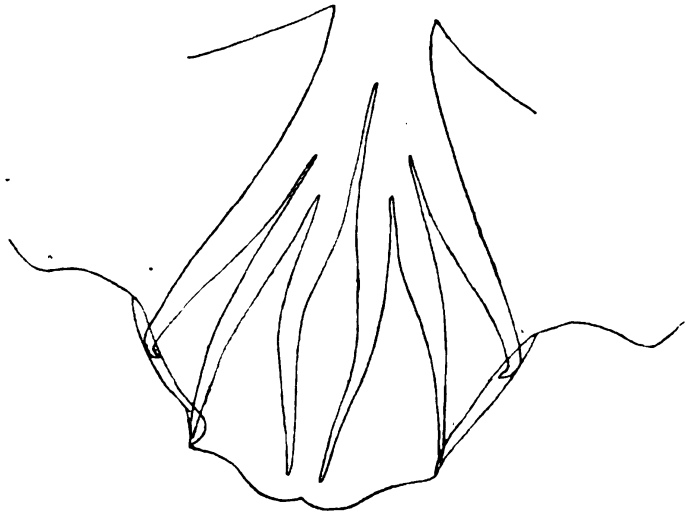


Fig. 1. Mittlerer Lappen der Bursa copulatrix.  $\times 120$  ( $\times \frac{2}{3}$ ).



Fig. 2. Rechte Seite der Bursa copulatrix, flach ausgebreitet.  $\times 70$  ( $\times \frac{2}{3}$ ).



schriebenen Exemplar ist aber bei den beiden mir jetzt vorliegenden Weibchen die Rückenseite des Hinterendes stärker gewölbt als die Bauchseite. Auch fehlt die Einschnürung, welche ich an der dorsalen Seite der Basis der kurzen Spitze, in welche der Körper endet, beschrieben habe und welche also, wie ich vermutete, erst durch die Fixation entstanden ist.

*Nachdruck verboten.*

## Die Biologie der Oxyuren.

Von Dr. med. Richard Rahner, Gaggenu.

Unter den Nemathelminthen sind es namentlich die Nematoden, welche als Parasiten des Menschen in den letzten Jahren ganz bedeutende gesundheitliche Störungen und nicht allzu selten lebensgefährliche Erkrankungen verursacht haben.

Wenn wir von einer Anguillulidenart absehen, die in Norditalien sehr oft, in Deutschland aber weniger vorkommt, so sind es vor allen Dingen die Askariden, die von uns bei den Wurmerkrankungen fast täglich beobachtet werden: *Ascaris lumbricoides* und *Oxyuris vermicularis*. Der beim Menschen (seltener bei Schweinen) in den letzten Jahren außerordentlich zahlreich vorkommende Spulwurm (*A. lumbricoides*), von welchem in meinem ärztlichen Bezirk mindestens 30 Proz. der Gesamtbevölkerung befallen sind, macht der Therapie keine Schwierigkeiten, da wir im Santonin bei richtiger Dosierung ein ausgezeichnetes Wurmmittel haben, so daß, würden auch die sonstigen, wichtigen hygienischen Vorschriften befolgt, es nicht allzu schwer wäre, die Askaridenerkrankungen immer mehr auszurotten. *Ascaris lumbricoides* tritt zurzeit derartig schwer auf, wie ich es in früheren Jahren nie beobachten konnte, so daß Ileuserscheinungen oder eine Pseudoperityphlitis, welche wegen Askariden chirurgische Eingriffe erfordert, nicht zu den Seltenheiten gehört (Volkmanns Samml. klin. Vortr. Chir. Nr. 118. 1906).

Kein chirurgisches Interesse erweckt *Oxyuris vermicularis*, aber ganz beträchtliche nervöse Störungen, schwere Schlaflosigkeit, anämische Zustände, Vaginitis und Blasenstörungen konnte ich neben den katarrhalischen Erkrankungen des Darmes beobachten, wenn Oxyuren in beträchtlicher Zahl auftraten. Die *Oxyuris*-Erkrankung ist seit 1½ Jahren in Mittelbaden geradezu epidemisch. Bisher ist die Therapie der Oxyuren keine leichte gewesen, namentlich, wenn es sich darum handelte, eine radikale Heilung zu erzielen, wenigstens nach meiner Erfahrung. Allerdings muß betont werden, daß bei der Therapie der Oxyuren die hygienischen Vorschriften, besonders bezüglich der Handpflege, streng beobachtet werden müssen, damit Autoinfektionen unterbleiben. Eine Ansteckung durch Umgang mit wurmkranken Tieren kann praktisch ignoriert werden, wenn auch im Tierreich Oxyuren vorkommen. Aber gerade die Tatsache, daß die Autoinfektion, die beim Menschen bei dieser Erkrankung eine ganz enorme Rolle spielt, bei Tieren, wie Pferden, kaum in Frage kommen kann, bei Hasen dagegen wieder mehr, erklärt uns die verschiedene Dauer der Wurmerkrankheit bei Tieren und das wesentlich verschiedene, quantitative Auftreten dieser Parasiten bei der einzelnen Art.

Guerrini hat 1909 eine Zusammenstellung der in Mailand bei Tieren gefundenen Parasiten gegeben<sup>1)</sup>. Er fand *Oxyuris curvula* (syn.: *Oxyuris equi*, *O. mastigodes*, *Trichocephalus equi*, *Mastigodes equi*) 2mal bei *Equus caballus* im Intestinum, *Oxyuris ambigua* (syn.: *Passalarus ambiguus*) 2mal bei *Lepus timidus* im Intestinum, *Oxyuris obvelata* im Intestinum einer *Mus decumanus* und bei *Macroscincus Coctei* den *O. Paronai*. Rich. Hertwig erwähnt in seinem Lehrbuche der Zoologie die *Ascaris mystax* als bei Hund und Katze vorkommend und sehr selten beim Menschen. Daß diese letztere *Oxyuris* auch bei Hund und Katze selten sein muß, geht daraus hervor, daß sie von Guerrini nicht gefunden wurde; gerade diese, dem Menschen so nahe stehenden Tiere sind also als Infektionsquelle für denselben praktisch belanglos.

Die menschliche Oxyuriasis wird bekanntlich verursacht durch *Oxyuris vermicularis* (Pfriemenschwanz), dessen Biologie jetzt gut erforscht ist, was für eine erfolgreiche Therapie unbedingt notwendig ist. Von dem getrennt-geschlechtlichen *O. vermicularis* ist für die Aetiologie und Pathologie beim Menschen das Weibchen von Hauptinteresse, das durch seine Größe leicht kenntlich (ca. 10 mm) ist, und sich rückwärts in einen „pfriemenförmigen Schwanz“ verlängert<sup>2)</sup>.

Die Oxyuren bewohnen oft zu Hunderten bis zu Tausenden den Dünndarm, wo Männchen und Weibchen ungefähr in gleicher Zahl vorkommen. Hier werden sie, aus dem Ei ausgeschlüpft, in ca. 4 bis 5 Wochen geschlechtsreif (Aufenthalt bis zum Pubertätsende) und begatten sich. Nach der Begattung wandern sie nach dem Coecum, woselbst die Schwangerschaft durchgemacht wird; hier treten sie auch in großen Massen, dem Auge leicht sichtbar, auf.

Die vor der Ablage stehenden Weibchen wandern zur Eiablage durch das Kolon, um zum Anus zu gelangen, und legen dann die Eier in die Analspalte, am Afterring, an die Genitocruralfalte, den Scheideneingang usw., oder sie werden mit dem Stuhle nach dem Rectum befördert, kriechen dann nach dem After, oder werden mit den Dejektionen entleert. Dejektionen sind oft förmlich mit Weibchen übersät, während Männchen, die ja im Kolon nur im Verhältnis von ungefähr 1:20 Weibchen vorkommen, der Beobachtung oft entschwinden. Die nach dem After usw. kriechenden Weibchen veranlassen das Wuseln und Jucken, namentlich abends und in der Bettwärme, und werden dann häufig auf der Bettwäsche liegend gefunden.

Das von diesen, vor der Eiablage stehenden Weibchens verursachte Jucken veranlaßt nun zum Kratzen und Reiben, wobei dann die in der Aftergegend abgelegten Eier unter die Fingernägel gebracht werden, oder es werden solche Weibchen zerdrückt, und damit die Finger erst recht infiziert. Am After sind Oxyureneier oft nachweisbar und an dem bereits entwickelten Embryo leicht erkennbar, so daß durch die infizierten Finger oder durch die von denselben infizierte Nahrung die Autoinfektion rasch fertig ist. Absolut falsch ist die Behauptung, welche in zahlreichen Werken neuester Auflage vertreten wird, daß die Infektion mit Oxyuren nur eine Infektion von Mensch zu Mensch sei. Wohl kommt es gar nicht selten vor, daß ein Oxyurenkranker die Eier auf andere Menschen überträgt, oder daß eine an Oxyuriasis leidende Köchin die Eier auf Nahrungsmittel überträgt, wodurch dann die ganze

1) Index parasitorum, qui exstant in instituto pathol. reg. scolae super. medic. veterin. Mediolani. Bologna 1909.

2) Bei Tieren habe ich eine Topographie ihrer Parasiten seiner Zeit für *Bacterium coli gallinarum* gegeben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. S. 239.)

Familie infiziert werden kann. Besonders aufmerksam gemacht sei auf die Infektionsmöglichkeit, wobei mit Oxyureneiern behaftete Nahrungsmittel (Gemüse, Mehl usw.), welche schon infiziert in das Haus gebracht werden, die Infektionsquelle abgeben. Die Eier von *Ascaris lumbricoides* sind widerstandsfähiger gegen Eintrocknen, behalten aber auch im Wasser ihre Vitalität, so daß Trinkwasserinfektionen möglich sind. Von *Trichocephalus dispar* ist absolut sicher nachgewiesen, daß durch Gartenerde Infektionen entstanden sind. Die Eier von Oxyuren sind aber sehr feuchtigkeitsempfindlich und gehen im Wasser in kurzer Zeit zugrunde, so daß Trinkwasserinfektionen unmöglich sind. Dagegen sind auch diese widerstandsfähig gegen Austrocknung, so daß oxyurenhaltiger, eingetrockneter, zerstäubter Kot infiziert. In dem Fäzes selbst sind Oxyureneier nicht nachweisbar. Ich konnte in Hunderten von Präparaten niemals Oxyureneier nachweisen; wenn ich ab und zu einmal Eier finden konnte, so waren sie in dem Stuhle aufgelagerten Schleimpartikelchen oder stammten von zerdrückten Weibchen.

Die seit 2 Jahren enorm verbreiteten Wurmkrankheiten, besonders auch die Oxyuriasis, an welcher zurzeit in unseren Bezirken mindestens  $\frac{1}{3}$  der Bevölkerung, auch Personen der Gesellschaft, leiden, dürften wohl durch die allgemeine unsachgemäße, unsorgfältige Behandlung der Nahrungsmittel bedingt sein. Zudem kommt dann noch das lange Zeit mangelnde Waschmaterial, schlechte oder gar keine Seife, notgedrungene Sparsamkeit mit Wäsche, Handtüchern usw. Gerade jetzt wird es daher die doppelte Aufgabe sein, energisch gegen die Krankheiten ex helminthiasi zu kämpfen.

Die therapeutischen Aufgaben gegenüber der Oxyuriasis sind uns durch deren Biologie vorgezeichnet. Zunächst gilt es, die Fäkalien der Wurmerkrankten zu vernichten, weil die Oxyureneier sehr resistent gegenüber der Austrocknung sind. Man sollte daher eine Desinfektion der Fäkalmassen, Abortgruben usw. durch Kalkmilch von der Gesundheitspolizei verlangen. Lagerräume usw. müßten wieder in hygienische Zustände verbracht werden usw.

Neben der allgemeinen Hygiene hat die Therapie und die Hygiene bei den Erkrankten einzusetzen. Die vollständige Befreiung von Oxyuren war bisher nicht leicht. Die bisher üblichen Mittel haben selten eine wirkliche Heilung herbeiführen können. Daher ist es mit Freuden zu begrüßen, daß Prof. Dr. Kaufmann in Jena in dem von ihm gefundenen **Oxymors** (fabrikmäßig hergestellt durch die chemischen Werke Rudolstadt, G. m. b. H.) ein souveränes Mittel für die Behandlung der durch die Oxyuren verursachten Krankheit gegeben hat. An 200 Fällen von Oxyuriasis habe ich dasselbe praktisch erprobt, und kann wohl behaupten, daß Oxymors bei dieser Wurmkrankheit vorzüglich wirkt, denn schon nach 1 Woche waren die Pat. ausnahmslos frei von diesen Parasiten <sup>1)</sup>.

1) Eine Arbeit, die speziell die chemischen und therapeutischen Fragen über Oxymors behandelt, ist in der „Berlin. klin. Wochenschr.“ von Kaufmann und mir veröffentlicht worden (Berlin. klin. Wochenschr. 1920. Nr. 8).

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage des „Lebendiggebärens“ der Kleiderlaus. Eine Klarstellung.

Von Prof. Dr. Albrecht Hase, Berlin-Dahlem.

Veranlassung zu dieser Notiz gibt eine Mitteilung in einer soeben erschienenen Veröffentlichung von R. Weigl<sup>1)</sup>, S. 356 heißt es daselbst wörtlich:

„Wie bekannt, nimmt die embryonale Entwicklung der Laus unter normalen Bedingungen und bei Körperwärme durchschnittlich 6—8 Tage in Anspruch. Es kommt aber auch bei viertägiger Kontrolle der Käfige und sorgfältigster Uebertragung der Läuse in frische Käfige dennoch vor, daß man auch schon nach 4 Tagen in den Käfigen bereits frisch ausgeschlüpfte Läschen findet. Diese Läuse können ja Nissen entstammen, die zufällig einer Laus anhafteten und dadurch trotz aller Sorgfalt beim Sortieren dennoch übersehen und nicht beseitigt wurden. Wahrscheinlich scheint es mir jedoch, daß wir es da mit Nachkommen lebend gebärender Läuse zu tun haben. Man trifft nämlich ganz ausnahmsweise auch lebend gebärende Läuse, so fand ich bereits 3 weibliche Exemplare, von denen eines tatsächlich eine größere Zahl (5) lebende Larven gebär. Bei den 2 anderen fanden sich bei der Sektion in den Eileitern lebende Embryonen in den verschiedensten Entwicklungsstadien.“

Zu diesen Darlegungen bemerke ich folgendes:

1) Bereits 1915 habe ich tatsächlich beobachtet, daß Nissen unter Umständen von legreifen Weibchen an die Körper anderer Läuse angeheftet werden. In meiner 1. Arbeit<sup>2)</sup> bildete ich auf S. 12 in Fig. 6 2 derartige Fälle ab. Einmal fand ich Nissen an ein Bein, das andere Mal an den Kopf einer anderen Laus angeklebt. Zu dieser anormalen Anheftung von Eiern kommt es besonders dann, wenn man Läuse in engen Zuchtkäfigen oder -schalen hält. Die von Weigl (s. oben) ausgesprochenen Vermutungen sind recht wohl möglich.

2) Weigl; behauptet, „lebendig gebärende Kleiderläuse“ beobachtet zu haben. Er sagt einmal, daß er 2 Weibchen vor sich gehabt hätte, bei denen sich im Eileiter lebende Embryonen in den verschiedensten Entwicklungsstadien befunden hätten — hinzugefügt muß natürlich werden, innerhalb des Eies. (D. Verf. Hase.) Wir bemerken zunächst dazu: Wenn eine Laus Eier mit teilweise entwickelten Larven absetzt, so bezeichnet man sie nicht als lebendig gebärend, sondern ovovivipar. Nach dieser Richtung hin bringt aber Weigl nichts Neues.

1) Weigl, Untersuch. u. Experim. an Fleckfieberläusen. Technik der Rickettsiaforschung. (Beitr. z. Klin. d. Infektkr. Bd. 8. 1920.)

2) Hase, Beiträge zu einer Biologie der Kleiderlaus. Berlin (P. Parey) 1915.

Derartige Beobachtungen machte ich bereits im Frühjahr 1915 und schrieb darüber<sup>1)</sup> „einige Worte möchte ich noch anschließen über die alten Angaben ‚3–4 Tage‘. Man kann durch niedrige Temperatur die Eiablage unterdrücken, wie schon einmal gesagt wurde. . . . Nun ist es möglich, daß ein Tier ein legreifes Ei in der Vagina liegen hatte, aber an der Ablage selbst verhindert wurde, eben durch Kältewirkung. Da wäre festzustellen, ob nicht im Tier selbst das Ei sich wenigstens etwas entwickelte und dann später, bei wieder eintretender höherer Temperatur ein schon „halbentwickeltes“ Ei abgesetzt wird, welches den Rest der noch fehlenden Ausbildung eben in 3–4 Tagen zurücklegt. Auch diese Frage bedarf noch der Klärung.“ Im Verlaufe weiterer Untersuchungen widmete ich dieser Frage meine Aufmerksamkeit und prüfte viele Weibchen nach dieser Richtung hin. Oftmals fand ich in den Eiröhren Eier mit so weit fortgeschrittener Entwicklung, daß man die Gliederung der Extremitäten, die rotgefärbten Augen und die Hauptborsten des Körpers sehr wohl erkennen konnte.

In einer späteren Arbeit aus dem Herbst 1915<sup>2)</sup> schrieb ich, gestützt auf meine Wahrnehmungen, l. c. S. 262 u. ff.: „In der Regel sind die Weibchen ovipar, d. h. sie legen Eier, die ihre Entwicklung erst außerhalb des Muttertieres beginnen. In seltenen Fällen, deren Ursache ich noch nicht feststellen konnte, sind die Weibchen auch ovovivipar, d. h. sie legen Eier ab, die schon hoch entwickelt sind und den fast fertigen Embryo bergen.“ So weit decken sich die Angaben Weigl und meine vor 4 Jahren gemachten Wahrnehmungen. — Nun schreibt aber genannter Autor (s. oben): man treffe ganz ausnahmsweise auch lebend gebärende Läuse, er habe bereits 3 weibliche Exemplare gefunden, von denen eines tatsächlich eine größere Zahl (5) lebender Larven gebär! Wenn Weigl damit ovovivipare Weibchen meint, so ist es Unklarheit im Ausdruck; wenn er aber damit sagen will, er habe tatsächlich vivipare Kleiderlausweibchen vor sich gehabt, so bin ich etwas skeptisch. — Wir können von lebendig gebärenden Läusen nur dann sprechen, falls der Schlüpfakt aus dem Ei innerhalb des mütterlichen Tieres vor sich geht. So wie sich Weigl ausdrückt, ist man zu der Auffassung gezwungen, als ob er tatsächlich lebendig gebärende Kleiderläuse beobachtet habe, d. h. es hätten frei bewegliche Larven das mütterliche Tier verlassen.

Bei der Wichtigkeit dieses Punktes ist es sehr erwünscht, daß sich genannter Autor zu dieser Frage nochmals, eingehender, als oben angeführt, äußert und unter Umständen die Befunde, welche unsere Kenntnisse über das Verhalten der Kleiderlaus wesentlich erweitern würden, an der Hand von photographischen Wiedergaben darlegt.

Ich selbst habe niemals lebend gebärende Läuse beobachtet — es ist auch schlecht vorstellbar, wie der Schlüpfakt aus dem Ei im engen Uterus vor sich gehen sollte. Wohl aber habe ich beobachtet,

1) Hase, s. o. l. c. S. 23.

2) Hase, Zur Naturgeschichte der Kleiderlaus. (Dermat. Wochenschr. Bd. 62. 1916.)

daß manche Weibchen ovovivipar sind gegenüber den normalen oviparen Exemplaren<sup>1)</sup>. Damit die zunächst sehr schwach begründeten Behauptungen von Weigl — es gäbe lebend gebärende Kleiderläuse — noch nicht in die Literatur aufgenommen werden, sah ich mich zu obiger Klarstellung veranlaßt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue Methode, Nukleoproteide aus Bakterien zu gewinnen.

[Aus der Medizinischen Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Prof. E. Toenniessen, Oberarzt der Klinik.

H. Buchner<sup>2)</sup> hat wohl als erster nachgewiesen, daß die entzündungs- und eitererregende Wirkung der Bakterien auf Eiweißstoffe zurückzuführen ist, welche „beim Absterben der Bakterien zur Ausscheidung aus dem Bakterienleib gelangen, während die lebhaft wachsenden jungen Keimlinge nichts oder möglichst wenig von ihrem Inhalt abgeben“. Buchner stellte seine Versuche mit dem Pneumoniebazillus an und extrahierte zur Gewinnung der Eiweißstoffe die Bazillen in 0,5-proz. Kalilauge mehrere Std. auf dem kochenden Wasserbad, eine Methode, die Nencki<sup>3)</sup> zur Darstellung seines „Mykoproteins“ aus verschiedenen Bakterienarten angegeben hatte. Eine nähere Charakterisierung des gewonnenen Eiweißkörpers führte Buchner jedoch nicht durch.

In der Folgezeit wurden von mehreren Forschern phosphorhaltige Eiweißkörper aus Bakterien gewonnen, aber erst durch Kossel<sup>4)</sup> wurde in der Hefe, durch Lustig und seinen Schüler Galeotti<sup>4)</sup> in mehreren anderen, darunter pathogenen Bakterienarten Nukleoprotein mit Sicherheit nachgewiesen.

Die Bedeutung der Bakterien-Nukleoproteide wurde bisher praktisch entschieden zu wenig gewürdigt, besonders auch in der Therapie am Menschen. Denn die Wirkung der Bakterien auf den Tierkörper scheint, mit Ausnahme der wenigen Arten, welche nichteiweißartige Ektotoxine bilden, hauptsächlich auf den Eiweißkörpern der Bakterienzelle zu beruhen. Wenigstens ist eine antigene und toxische Funktion andersartiger Substanzen von Bakterien (Kohlhydrate, Neutralfette, Lipoide) noch nicht allgemein anerkannt. Dagegen ist die intensive Wirkung parenteral dem Tierkörper zugeführter Bakteriennukleoproteide schon längst bekannt (vgl. besonders Lustig<sup>4)</sup>); neuerdings wurde nachgewiesen, daß die Bakteriennukleoproteide artspezifische Anaphylaxie (Guerrini<sup>5)</sup>), Komplementbindung (Cannata<sup>6)</sup>) und Agglutinine (Cannata<sup>6)</sup>) hervorrufen. Das Pest-Nukleoprotein hat starke toxische und immunisierende Eigenschaften, und zwar auch beim Menschen (Lustig und Galeotti<sup>4)</sup>), das Choleranukleoprotein bewirkt im Tierkörper die gleichen Veränderungen wie eine Infektion mit lebenden Bazillen (Kravkoff, zit. nach

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, daß ich ganz analoge Beobachtungen an trächtigen Bettwanzen machte. Auch bei diesem Ektoparasiten werden unter Umständen Eier auf ganz verschiedenen Entwicklungsstufen abgelegt.

2) Berlin. klin. Wochenschr. 1890. Nr. 30.

3) Beitr. z. Biol. d. Spaltpilze. Leipzig 1880.

4) Zit. nach Lustig, Bakterien-Nukleoproteide. (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2.)

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. S. 595.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. S. 61.

Lustig)<sup>1)</sup>, ebenso das Typhus-Nukleoprotein (Barantschik)<sup>2)</sup>. Das Milzbrand- und Cholera-Nukleoprotein hat im Tierversuch sichere immunisierende Wirkung [Tiberti)<sup>3)</sup> bzw. Galeotti)<sup>3)</sup>]. Diese Beispiele für die außerordentliche biologische Bedeutung der Nukleoproteide ließen sich leicht vermehren; es geht eindeutig daraus hervor, daß die toxische, antigene und immunisierende Wirkung bei den meisten Bakterien im wesentlichen an das Nukleoprotein gebunden ist; die leichte und genaue Dosierbarkeit und die gute Haltbarkeit macht die Nukleoproteide zu Immunisierungszwecken besonders geeignet.

Da es mir vor kurzem gelang, die Kapselsubstanz des Pneumoniebazillus rein darzustellen und als Galaktan zu identifizieren, war es von Interesse, auch das Bakterieneiweiß, das ja zum großen Teil aus Nukleoprotein besteht, zu gewinnen, um es hinsichtlich seiner aggressiven und immunisierenden Wirkung mit der Kapselsubstanz zu vergleichen. Nach Lustig und Galeotti werden die Bakteriennukleoproteide durch mehrstündige Extraktion der Kulturmasse mit verdünnter Kalilauge (0,75 bis 1,0 Proz.) bei 15° in Lösung gebracht und aus der Lösung durch Essigsäure gefällt. Doch ist auf diese Weise nicht bei allen Arten das Nukleoprotein zu erhalten, da bei manchen Bakterien „die Membran ein unüberwindliches Hindernis für die Extraktion der Nukleoproteide darstellt“, wie schon Buchner<sup>4)</sup> beim Pneumoniebazillus beobachtete. Auch ich konnte bei dieser Methode nur eine Lösung der Gallerthülle beobachten, während das Ektoplasma (die „Membran“) unverändert blieb und kein Nukleoprotein bei 15° und 37° in Lösung gehen ließ. Extrahiert man die Bazillen länger (z. B. 8 Tage in 1-proz. Kalilauge), so tritt zwar allmählich stärkere Lösung der Bazillenleiber und der in ihnen enthaltenen Eiweißkörper ein, aber die Eiweißkörper werden gleichzeitig durch Einwirkung der Lauge so verändert, daß sie mit Essigsäure nicht mehr fällbar sind. Verwendet man ältere Kulturen (4–8 Wochen alt), in denen die Bazillen ihre Gallerthülle schon verloren haben und demnach eine leichte Extraktion der Nukleoproteide zu erwarten ist, so bekommt man zwar beim Ansäuern der alkalischen Digestionsflüssigkeit eine deutliche Trübung; der Gehalt an Nukleoproteiden reicht jedoch zu einer Fällung nicht aus.

Ich versuchte deshalb das von Buchner<sup>4)</sup> in Anknüpfung an Nencki<sup>5)</sup> angewandte Verfahren. Die Bazillen werden dabei in 1-proz. Kalilauge suspendiert und 4–7 Std. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Durch Filtrieren erhält man eine klare, gelbbraune Flüssigkeit, aus der das Protein durch vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure gefällt werden kann. Bei der Nachprüfung erhielt ich jedoch bei 1–2-stünd. Erhitzen in der filtrierten, klaren Extraktionsflüssigkeit keine Trübung mit Essigsäure, mit Essigsäure und Ferrocyankali sowie mit der Biuretprobe nur schwache Reaktion, nach längerem Erhitzen (4–7 Std.) fielen auch diese Proben negativ aus; eine Fällung durch Essigsäure erhielt ich nie. Worin diese Unstimmigkeit gegenüber den Angaben Buchners beruht, weiß ich nicht.

Auf der Suche nach anderen Methoden fand ich, daß Nencki und Schaffer<sup>6)</sup> zur Gewinnung des „Mykoproteins“ die Bazillen zuerst

1) Zit. nach Lustig, Bakterien-Nukleoproteide. (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2.)

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. S. 682.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 56. S. 405.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1890. Nr. 30.

5) Beitr. z. Biol. d. Spaltpilze. Leipzig 1880.

6) Journ. prakt. Chem. N. F. Bd. 20.

in verdünnter Salzsäure erhitzten und dann mehrere Stunden in 1,5-proz. Kalilauge auf dem kochenden Wasserbad extrahierten. Das Mykoprotein wird dann durch Aussalzen gewonnen. Da aber das Erhitzen mit Kalilauge schon bei Nachprüfung der Buchnerschen Methode versagte und da außerdem das „Mykoprotein“ Nenckis in späteren Untersuchungen nicht wieder gefunden wurde, kam diese Methode nicht in Betracht.

Vorbehandlung der Bazillen mit Salzsäure bei 15°, wie sie v. Hoffmann<sup>1)</sup> zur Gewinnung der Eiweißkörper der Tuberkelbazillus anwandte, führte auch nicht zum Ziel, da hierdurch beim Pneumoniebazillus keine vollständige Trennung der Bazillenleiber von den Gallerthüllen zu erreichen ist und keine klare Lösung erhalten wird, aus der man die Eiweißkörper fällen könnte.

Mehr zufällig führte eine andere Methode zum Ziel. Bei der Nachprüfung der Angaben Hamms<sup>2)</sup> über die Gewinnung der Kapselsubstanz wurden die vom Nährboden abgeschwemmten Kulturen in 20-fach verdünnter Salzsäure (spez. Gew. 1,20) suspendiert (Muzinnachweis nach Salkowski<sup>3)</sup>) und 5 Min. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Nach 2-stünd. Zentrifugieren erhält man eine klare Lösung der Kapselsubstanz und ein Sediment von kapsellosen Bazillen. Soweit stimmten meine Befunde mit denen Hamms überein. Weiter gibt jedoch Hamm an, daß die Lösung keine Kupferoxyd reduzierende Substanz enthält (selbst nach weiterem Erhitzen der salzsauren Lösung auf dem Wasserbad während 10 Min.), während ich hierbei sehr starke Reduktion feststellen konnte; da Hamm außerdem beobachtet hat, daß die schwach alkalische Emulsion seiner Kulturen mit Essigsäure deutliche Trübung gibt, zieht er den Schluß, daß die Substanz der Kapsel kein Muzin, sondern ein Nukleoalbumin- bzw. Proteid sein müsse. Ueber Eiweißreaktionen berichtet er jedoch nicht; der Nachweis, daß die Kapselsubstanz ein Kohlehydrat ist, den Verf. bereits an anderer Stelle<sup>4)</sup> erbracht hat, entging Hamm, und zwar, wie ich aus seiner Versuchsanordnung entnehme, wohl durch unrichtige Ausführung der Reduktionsprobe.

Da also bei der geschilderten Vorbehandlung mit Salzsäure die Kohlehydrathülle der Bazillen in Lösung geht, lag es nahe, das durch Zentrifugieren erhaltene Sediment von kapsellosen Bazillen auf Nukleoproteid zu untersuchen. In der Tat gelang der Nachweis.

Ich prüfte ferner auch die Flüssigkeit auf Nukleoproteid, da F. Müller<sup>5)</sup> angibt, daß bei Darstellung des Sputummuzins durch Waschen mit verdünnter Salzsäure ein Teil der Nukleoproteide in Lösung geht. Es zeigte sich, daß auch in der Flüssigkeit Nukleoproteid, allerdings nur in geringen Mengen, vorhanden war. Die Methode, die ich im Prinzip schon kurz beschrieben habe<sup>6)</sup>, hat seitdem einige Verbesserungen erfahren.

Hinsichtlich der Gewinnung der nötigen Massenkulturen, deren Trennung vom Nährboden und Verarbeitung zur Gesamttrockensubstanz verweise ich auf meine Arbeit über die Kapselsubstanz des Pneumonie-

1) Wien. klin. Wochenschr. 1894. Nr. 38.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 298.

3) Praktikum d. physiol. u. path. Chem. 1906. S. 136.

4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 85.

5) Zeitschr. f. Biol. Bd. 42. S. 468.

6) München. med. Wochenschr. 1919. Nr. 49.



bazillus<sup>1)</sup>. Die weitere Verarbeitung geschieht folgendermaßen: 0,5 g der Gesamttrockensubstanz werden in 95 ccm dest. Wasser gebracht. Die Substanz quillt darin allmählich auf und läßt sich durch mehrmaliges Umschütteln während des Quellens im Verlauf von 12—24 Std. homogen verteilen. Es resultiert eine farblose, stark getrübe, sehr visköse und fadenziehende Flüssigkeit. Nun werden 5 cm konzentrierte reine Salzsäure zugesetzt (spezif. Gew. 1,20), durch Schütteln gemischt und 5 Min. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Die Flüssigkeit bleibt dabei trüb. Dann wird im fließenden Wasser abgekühlt, mit 33 Proz. Natronlauge eben alkalisch gemacht und mit konzentrierter Salzsäure eben wieder angesäuert. Es bildet sich ziemlich rasch ein feinflockiger Niederschlag, die Flüssigkeit scheint sich zu klären. Nach dieser Vorbehandlung braucht man jetzt nur  $\frac{1}{2}$  Std. zu zentrifugieren, um eine völlig klare Flüssigkeit und ein scharf abgesetztes Sediment zu erhalten. Die Flüssigkeit (in folgendem kurz als „Salzsäureflüssigkeit“ bezeichnet) wird abpipettiert, schwach alkalisch gemacht und dann mit Essigsäure eben angesäuert, worauf noch ein Zusatz von Essigsäure zur Endkonzentration von 1 Proz. erfolgt. Es bildet sich dabei eine Trübung und bald ein flockiger Niederschlag von Nukleoproteid. Dieser Niederschlag ist von äußerst geringer Menge; man kann aus der Salzsäureflüssigkeit mehr gewinnen, wenn man die Kulturmasse statt 5 Min. 10 Min. in der verdünnten Salzsäure auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wird aber aus dem Sediment um so weniger gewonnen; die beste Ausbeute ergibt die Erhitzung auf 5 Min.

Das Sediment wird in 1-proz. Kalilauge aufgeschwemmt, 16—24 Std. bei 15° stehen gelassen, dann abzentrifugiert, die leicht getrübe Flüssigkeit abpipettiert, mit Essigsäure eben angesäuert und dann mit Essigsäure zur Endkonzentration von 1 Proz. versetzt. Die Flüssigkeit trübt sich gleichzeitig mit dem Eintritt saurer Reaktion und setzt bald ein feinflockiges Sediment, das Nukleoproteid, ab. Die Substanz wird dann mit Hilfe der Zentrifuge in Wasser gewaschen und durch mehrmaliges Lösen in Alkali und Fällen durch Essigsäure gereinigt.

Das Nukleoproteid löst sich leicht in Alkali unter geringer Opaleszenz, ist in Wasser und verdünnten Säuren unlöslich, gibt starke Biurettreaktion. Ebenso ist die Millonsche und die Xanthoproteinreaktion positiv.

Das ausgefällte Nukleoproteid kann durch die von Lustig und Galeotti<sup>2)</sup> angegebenen Methoden konserviert oder durch Alkohol und Aether wasserfrei und als helles, meist etwas bräunlich gefärbtes Pulver gewonnen werden. Es wird durch den Alkohol und Aether koaguliert und ist dann in Alkali unlöslich. Der Stickstoffgehalt ist 11,35 Proz., also ungefähr der gleiche wie bei den anderen Bakteriennukleoproteiden, der Purinbasenstickstoff 0,61 Proz. (Bestimmung nach Brugsch-Schittenhelm<sup>3)</sup>). Nun enthält die Gesamttrockensubstanz der Bazillen 0,42 Proz. Purinstickstoff und 4,9 Proz. Stickstoff im ganzen, also beinahe relativ ebensoviel Purinstickstoff, wie das isolierte Nukleoproteid. Dieser auffallende Befund ließ vermuten, daß das Nukleoproteid bei der Darstellung Zersetzungen erleidet, insbesondere ärmer an Purinbasen wird. In der Tat zeigte es sich, daß beim Erhitzen der Gesamttrockensubstanz

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 85.

2) Zit. nach Lustig, Bakteriennukleoproteide (Kolle. Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2).

3) Spez. Technik klin. Untersuchungsmeth. 1914. Teil II. S. 719.

in verdünnter Salzsäure  $\frac{2}{3}$  des Gesamtstickstoffs und  $\frac{4}{5}$  des Purinbasenstickstoffs aus den Bazillenleibern extrahiert werden und für die Gewinnung des Nukleoproteids verloren gehen, da sie durch Essigsäure nicht gefällt werden.

Bei Verarbeitung von 500 mg Ges.Tr.Subst. mit 24,5 mg Gesamtstickstoff und 2,10 mg Purinstickstoff gingen 16,8 mg Gesamt-N als Peptone (Biuretreaktion positiv) und 1,7 mg Purin-N aus den Bazillenleibern in die Lösung über. Nukleinsäuren waren in der Lösung weder durch Mineralsäuren noch durch Kupferchlorid nachzuweisen. Dagegen fanden sich Spuren freier Phosphorsäure und organisch gebundener Phosphorsäure. Außer dem Nukleoproteid konnten andere Eiweißkörper aus der Salzsäureflüssigkeit sowie aus den Bazillenleibern nur in Spuren gewonnen werden (Fällung durch Ammonsulfat). Nach der Veraschung mit Soda und Salpeter gibt das Nukleoproteid schwache Phosphorreaktion; zur quantitativen Bestimmung hatte ich nicht genügend Substanz, da der Phosphorgehalt bei den bisher untersuchten Bakterien-nukleoproteiden sehr gering ist (0,028—0,043 Proz. nach Lustig<sup>1</sup>).

Der Umstand, daß das Nukleoproteid bei der Darstellung Zersetzungen erleidet, ist kein Gegengrund, den durch Essigsäure fällbaren Körper als Nukleoproteid zu bezeichnen. Es ist ja bekannt, daß die Nukleoproteide, da sie aus dem Innern der Zellen freigemacht werden müssen, nur unter einer mehr oder weniger hochgradigen chemischen Veränderung gewonnen werden können, und man bezeichnet deshalb die mittels kalter Extraktionsmittel gewonnenen Körper als  $\alpha$ -Nukleoproteide, die mittels heißer Extraktionsmittel gewonnenen als  $\beta$ -Nukleoproteide (vgl. F. Samuely<sup>2</sup>). Die Nukleoproteide sind außerdem schwer oder überhaupt nicht rein darzustellen; trotzdem müssen sie als wirkliche Bausteine der Zellen angesehen werden (vgl. Schittenhelm und Brahm<sup>3</sup>). Zu den  $\beta$ -Nukleoproteiden müßte also der in vorstehendem beschriebene Eiweißkörper des Pneumoniebazillus gerechnet werden.

Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, welche aggressiven und immunisierenden Eigenschaften das Nukleoproteid besitzt, ob die artspezifischen, als Antigen wirkenden Gruppen des Eiweißmoleküls bei der Darstellung erhalten geblieben sind. Auf Grund zweier Beobachtungen ist eine stärkere Antigenwirkung vom Nukleoproteid als vom Gesamt-bazillus zu erwarten:

1) Aeltere Kulturen zeigen nach eigener Beobachtung eine stärkere immunisierende Wirkung als frische<sup>4</sup>). Dies rührt vermutlich von Nukleoproteiden her, welche durch autolytische Prozesse aus dem Innern der Bakterienzelle frei geworden sind, denn die alkalische Extraktionsflüssigkeit älterer Kulturen gibt mit Essigsäure eine bedeutend stärkere Trübung als der Extrakt frischer Kulturen.

2) Vom unveränderten Pneumoniebazillus ist im Tierkörper nur eine geringe Antigenwirkung zu erwarten, da bei der Temperatur des Tierkörpers selbst 1-proz. Kalilauge nicht dazu genügt, um die Eiweißkörper aus dem Innern der Bakterienzelle in Lösung zu bringen (wenigstens nicht in kürzerer Zeit und unverändert). Um wie viel weniger

1) Zit. nach Lustig, Bakteriennukleoproteide (Kolle-Wassermanns Handb. 2. Aufl. Bd. 2, 2).

2) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. Bd. 2.

3) Oppenheimer, Handb. d. Biochem. Bd. 1.

4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76.

müssen die tierischen Säfte dazu imstande sein, das Antigen aus den Bazillenleibern frei zu machen!

### Zusammenfassung.

Durch Vorbehandlung mit verdünnter Salzsäure (kurze Erhitzung auf dem Wasserbad) und folgende Extraktion in 1-proz. Kalilauge bei 15° gelingt es, aus dem Pneumoniebazillus ein  $\beta$ -Nukleoproteid zu gewinnen. Die bisher bekannten Methoden der Nukleoproteidgewinnung versagen bei diesem Bakterium. Es ist zu erwarten, daß die neue Methode auch bei anderen Bakterienarten, bei denen bisher kein Nukleoproteid zu gewinnen war, zum Ziele führt. Versuche, durch das Nukleoproteid stärkere Antigenwirkung und Immunität zu erzielen als durch die ganzen Bazillenleiber, erscheinen auf Grund einiger Beobachtungen aussichtsreich.

### Berichtigung.

In dem Aufsatz „Ein Jahr Anophelenbeobachtung“ von Hans Osterwald und Ernst Tänzer, diese Zeitschr. Bd. 85. 1920. H. 1, muß es heißen statt „Im Dezember war jedoch die Stechlust am größten“ auf S. 44 unter Nr. 4., zweiter Absatz, zweite Zeile: „Im Dezember war jedoch die Stechlust am geringsten“!

### Inhalt.

- |   |   |
|---|---|
| <p><b>Abel</b>, Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit des Herrn Prof. Dr. Bitter-Kiel, S. 349.</p> <p><b>Bach, F. W.</b>, Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens, S. 305.</p> <p><b>Bitter, Ludwig</b>, Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose. Mit 1 Kurve im Text, S. 339.</p> <p>—, Entgegnung auf die vorstehenden Bemerkungen des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Abel, S. 351.</p> <p><b>Hase, Albrecht</b>, Zur Frage des „Lebendiggebärens“ der Kleiderlaus“. Eine Klarstellung, S. 377.</p> <p><b>Ihle, J. E. W.</b>, Das Männchen von <i>Cylicostomum ultrajectinum</i>. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 372.</p> <p><b>Klinger, R.</b>, Zur Aetiologie der Aktinomykose, S. 357.</p> | <p><b>Konrádi, Daniel</b>, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. IV. Mitteilung. Beitrag zur Kenntnis der Heilung der Wut, S. 359.</p> <p><b>Olsen, O.</b>, Untersuchungen über den Pfeifferschen Bazillus. III. Mitteilung, 354.</p> <p><b>Frausnitz, Carl</b>, Bakteriologische Untersuchungen über Schweinerotlauf beim Menschen, S. 362.</p> <p><b>Rahner, Richard</b>, Die Biologie der Oxyuren, S. 374.</p> <p><b>Toenniessen, E.</b>, Ueber eine neue Methode, Nukleoproteide aus Bakterien zu gewinnen, S. 379.</p> <p><b>Uhlenhuth, P.</b>, u. <b>Manteufel, P.</b>, Zur Kenntnis der Geflügelpocken, S. 366.</p> <p><b>Vogel, R.</b>, Ein <i>Cysticercus</i> des Regenwurmes als Jugendform der Vogeltänie <i>Dilepis undula</i> (Schränk). Mit 2 Abbildungen im Text, S. 370.</p> |
|---|---|

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 85. Beiheft.

Ausgegeben am 28. Februar 1921.

*Nachdruck verboten.*

## Bericht über die 8. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie vom 8. bis 10. Sept. 1920 in Jena.

Zusammengestellt von dem ständigen Schriftführer **R. Otto** (Berlin).

1. Tag. 8. Sept. 1920 Vorm.

Sitzung im Hygien. Institut der Universität.

Vorsitzender: **W. Kolle** (Frankfurt a. M.).

Geschäftlicher Teil: Der Vorsitzende begrüßt die Mitglieder und die Gäste der Vereinigung, welche nach 6-jähriger Unterbrechung zum 8. Male tagt. Er gedenkt der verstorbenen und der im Weltkriege gebliebenen Mitglieder (Apolant, Aronson, v. Behring, Bitter, Brieger, Dammann, Ehrlich, Emmerich, v. Es-march, Finger, Fischer, Fränken, Gaffky, Gonder, Hammerl, Herr, Hofer, Jochmann, Kretz, Levy, Liefmann, Löffler, Lühe, O. Müller, P. Th. Müller, Nietner, Proskauer, v. Prowazek, Römer, Schottelius, Tavel, Trautmann, Wyss), unter denen sich eine große Zahl führender Geister und Bahnbrecher auf dem Gebiet der Mikrobiologie befinden.

Der Vorsitzende verweist u. a. auf die zurzeit bestehende wirtschaftliche Not-lage Deutschlands hin, die auch die wissenschaftliche Tätigkeit der Institute stark be-einträchtigt. Um die Forschungsarbeiten der deutschen Mikrobiologen auf ihrer alten Höhe erhalten zu können, sei es notwendig, Parlamente, Behörden und Private, vor allem die Industrie, für unsere Arbeiten mehr als bisher zu interessieren. Auf seinen Vorschlag wird zu diesem Zwecke eine Kommission (bestehend aus Lehmann, Pfeif-fer, Kolle und Uhlenhuth) gewählt.

Abel begrüßt als Institutsdirektor die Versammlung in den Räumen des Hygie-nischen Instituts und zugleich als Dekan im Namen der medizinischen Fakultät.

Kolle dankt im Namen der Vereinigung und teilt weiter mit, daß der Ausschuß folgende Statutenveränderungen vorschlägt:

1) § 3, Ab-atz 3 soll lauten: „Bei jeder Tagung scheiden die beiden am längsten dem Ausschuß angehörenden Mitglieder aus. An ihrer Stelle usw.“

2) § 10 soll heißen: „Der Jahresbeitrag beträgt 20 M. Die Kasse usw.“

Die vorgeschlagenen Aenderungen werden von der Versammlung angenommen. Bezüglich der nächsten Tagung wird beschlossen, daß im Jahre 1921 keine Tagung stattfinden soll; das Weitere wird dem Ausschuß überlassen.

Auf Vorschlag des Ausschusses werden gewählt:

1) für die ausgeschiedenen Mitglieder Fischer-Kiel (verstorben) und Gärtner-Jena (ältestes Ausschußmitglied): Abel-Jena und Uhlenhuth-Berlin;

2) für den auf seinen Wunsch ausscheidenden (seit 1913 dieses Amt versehenden) Schriftführer Neufeld-Berlin: R. Otto-Berlin. Neufeld erklärt sich bereit, für den dienstlich verhinderten neu gewählten Schriftführer während der Tagung weiter zu fungieren.

Als Vorsitzenden für das nächste Jahr hat der Ausschuß Uhlenhuth-Berlin gewählt.

Der Ausschuß besteht demnach aus:

Uhlenhuth (Berlin), Vorsitzender,  
Kolle (Frankfurt a. M.),  
v. Ostertag (Berlin),  
Kruse (Leipzig),  
Doerr (Basel),  
Abel (Jena),  
Otto (Berlin), Schriftführer.

## Wissenschaftlicher Teil.

## 1. Referat. Doerr (Basel):

**Das Fleckfiebertvirus und seine immunisatorischen Eigenschaften.**

Meine Herren! Als Fachleute und Kenner der einschlägigen Literatur werden Sie nicht verlangen, daß ich im Rahmen eines kurzen Referates unsere derzeitigen Auffassungen über die Aetiologie des Fleckfiebers kritisch und gleichzeitig auch nur annähernd vollständig darstelle. Beiden Forderungen zu entsprechen ist bei dem Umfang, den dieses Gebiet in den letzten Jahren angenommen hat, und bei der wachsenden Zahl der noch unerledigten oder strittigen Probleme einfach ausgeschlossen. Daß ich vor das Dilemma gestellt das Streben nach Vollständigkeit unbedenklich opferte und beschloß, mich auf die analytische Zergliederung der fundamentalsten Fragen zu beschränken, war durch das Niveau, welches die Tagungen unserer Vereinigung stets auszeichnete, begründet und auch insofern gerechtfertigt, als das Bedürfnis nach genauen, alle Details berücksichtigenden Abhandlungen durch die zusammenfassenden Arbeiten von da Rocha-Lima in den Ergebn. d. allg. Pathologie, von Ch. Nicolle in den Bulletins de l'Institut Pasteur und von Th. Zlocisti in den Weichardtschen Jahresberichten weitgehend saturiert erscheint. Die genannten drei Monographien, von denen jede die Eigenart ihres Autors widerspiegelt, ergänzen sich gegenseitig vortrefflich und gewähren — wenn man von der letzten Mitteilung Kuczynskis über die Kultur des Fleckfiebererregers absieht — ein ziemlich lückenloses Bild der bisher gewonnenen Resultate; sie gestatten auch einen genügenden Einblick in den Stand der Diskussion, ermöglichen aber dem Leser, der nicht über eigene ausgedehnte experimentelle Erfahrungen verfügt, kein sicheres Urteil, wie weit man sich auf die Fleckfieberversuche in der heute allgemein üblichen Form der Meerschweincheninfektion und auf die zahlreichen daraus abgeleiteten Schlußfolgerungen verlassen darf. Die überzeugenden Ausführungen von da Rocha-Lima und Nicolle lassen allerdings Zweifel in dieser Richtung kaum aufkommen; die Einwände von Zlocisti oder Friedbergers geschickte Polemik sind aber trotz alledem geeignet, das Zutrauen des Fernstehenden nachhaltig zu erschüttern. Diesen Zustand der Unklarheit sollte man beseitigen; denn mit dem Meerschweinchenversuch steht und fällt das meiste von dem, was wir heute für bewiesen halten. Meines Erachtens genügt es nicht, die Gegner des Meerschweinchenexperimentes einfach majorisieren oder damit abfinden zu wollen, daß man den Anspruch auf Beachtung ihrer Meinungsäußerungen mit dem Hinweise auf die fehlende oder unzureichende experimentelle Betätigung bestreitet. Kritiker müssen angehört und widerlegt werden; und wenn sie von biologischen ebenso wie von allen anderen Versuchsanordnungen Reproduzierbarkeit und Eindeutigkeit verlangen, so befinden sie sich im Recht. Ob aber die landläufige Technik des Meerschweinchenexperimentes und seines gewohnten Kontrollapparates diesen Postulaten restlos genügt, darf in Frage gestellt werden, auch wenn man sich sonst nicht zu den Argumentationen von Zlocisti und Friedberger bekennt; dazu autorisiert u. a. die Tatsache, daß zwei Anhänger der Methode, da Rocha-Lima und ich, kontradiktorische Ergebnisse erzielten, als sie die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit abgetötetem Fleckfiebertvirus feststellen wollten.

Bei dieser Sachlage erschien es mir am zweckmäßigsten, in erster Linie unser Wissensinventar über die Pathogenität des Fleckfiebertvirus, also über die einzige Eigenschaft, welche bisher zu seinem Nachweis verwendet werden kann, zu revidieren und auf die hier bestehenden Unklarheiten hinzuweisen.

Sie wissen, daß man in einer sehr großen Zahl von Fällen mit dem Blute fiebernder Exanthematicuspatienten gesunde Menschen infiziert hat. Diese Tatsache wird überall erwähnt, ist daher auch allgemein bekannt; mit den recht merkwürdigen Einzelheiten hat man sich jedoch sehr wenig befaßt. Zunächst stellt es sich bei der Durchsicht dieser Berichte heraus, daß das Eindringen von frischem Fleckfieberblut in seichte oder geringfügige Hautverletzungen keine Infektion zur Folge hat. Schon im Jahre 1782 berichtete August Krauss, daß er sich selbst vergeblich das Blut einer Petechie inokuliert habe, und 1785 teilte Stoll mit, er hätte wiederholt, aber stets mit negativem Resultat versucht, das durch Skarifikation aus Petechien gewonnene Blut auf gesunde Individuen zu verimpfen; ebensowenig wollte es 1873 Obermeier gelingen, absichtlich beigebrachte Ritzwunden der Haut gesunder Personen mit Exanthematicusblut zu infizieren. Ganz analoge Angaben finden sich bei Munk, Nicolle und Zlocisti. Die Unwirksamkeit dieser Applikationsart des Virus hat höchstwahrscheinlich nichts mit einer zu geringen Zahl von Erreger-elementen zu schaffen, sondern beruht entweder darauf, daß dem Fleckfieberkeim die bei den Spirochäten so entwickelte Fähigkeit des aktiven Eindringens in die tieferen Gewebsschichten mangelt, oder die Sache liegt so, daß dieses Mikrobion tatsächlich ein obligater Zellschmarotzer im Sinne Kuczynskis ist und in oberflächlichen Läsionen des Integumentes nicht jene Wirtszellen antrifft, in denen es allein zu parasitieren vermag. Beide Erklärungen schließen sich übrigens gegenseitig nicht aus.

Die subkutane Injektion von Fleckfieberblut in Dosen von 0,2—5,0 ccm hat dagegen relativ häufig die spezifische Krankheit beim Menschen hervorgerufen, aber — und das ist festzuhalten — durchaus nicht immer, sondern nicht öfter als in etwa 50 Proz. aller angestellten Versuche. Mit einer einzigen Ausnahme, welche Yersin und Vassal betrifft, hatten sämtliche Experimentatoren auf diesem Gebiete Versager zu verzeichnen, Finn und Artemowitsch, Moczutkowski, Otéro, der berüchtigte Dr. H. O., und endlich auch Hamdi. Die Versager sind somit gesetzmäßig und im auffälligsten Kontrast zu der so allgemeinen und hochgradigen Disposition des Menschen gegenüber dem natürlichen Infektionsmodus, wie sie sich aus ungezählten epidemiologischen Erfahrungen ergibt. Man kann selbstverständlich das Fehlschlagen der Infektionsversuche durch subkutane Bluteinspritzung nicht auf Variationen der individuellen Resistenz beziehen; es ist widersinnig, auf der einen Seite die maximale Empfänglichkeit der Spezies Mensch zuzugestehen, und, sobald eine andere plausible Erklärung fehlt, bei der Hälfte aller Individuen einen absolut refraktären Zustand anzunehmen.

Als wahre Ursachen der Erscheinung kommen vielmehr nur in Betracht: 1) die besondere Beschaffenheit des virushaltigen Materials oder 2) die Art, wie dasselbe in den empfänglichen Organismus eingebracht wird.

Leider gestatten die vielen Menschenexperimente weder in der einen noch in der anderen Richtung ein Urteil, weil die Versuchsbedingungen

nicht variiert wurden. Man hat bis jetzt immer nur Fleckfieberblut eingespritzt, so daß jede Vergleichsmöglichkeit mit anderen virushaltigen Substraten von höherer oder konstanter Infektiosität fehlt; alle Injektionen wurden subkutan ausgeführt, so daß sich auch keine Parallele mit einem anderen, speziell mit dem endovenösen Applikationsmodus ziehen läßt; ja man hat infolge des kleinen Intervalles, in welches sämtliche zur Injektion gelangte Blutquanten fallen, nicht einmal approximative Anhaltspunkte über die infizierenden Minimaldosen und damit über den Keimgehalt des Fleckfieberblutes gewonnen. Angaben verlässlicher Art über einen dieser drei Punkte wären von großer Bedeutung und geeignet, viele dunkle Gebiete der Pathogenese dieser Infektion zu erhellen. Einstweilen beschränkt sich die ganze wissenschaftliche Ausbeute, die allerdings noch immer hoch zu bewerten ist, auf die unmittelbare Gewißheit, daß das Fleckfieber experimentell übertragbar ist, und daß der Erreger im Blute vorhanden sein muß.

So bleibt es vorläufig unentschieden, wie man sich zu der obigen Alternative über den inkonstanten Ausfall der Menschenversuche stellen soll, und das ist bedauerlich, weil Fleckfieberblut vom Menschen auch auf alle anderen empfänglichen Tierspezies, z. B. auf Affen oder Meerschweinchen, genau in derselben unregelmäßigen Art und offenbar aus den gleichen Gründen einwirkt; den positiven Resultaten steht eine stattliche Anzahl von Mißerfolgen gegenüber, wie aus den Mitteilungen von Anderson und Goldberger, Otto und Dietrich, Nicolle und Lebailly klar hervorgeht.

Man hat sich mit der Hypothese zu helfen gesucht, daß das Fleckfieberblut arm an Erreger-elementen sein müsse; als Beweis wird angeführt, daß die Infektionen bei Versuchstieren nach Anwendung großer Quantitäten sicherer haften. Was versteht man aber unter „großen“, was unter kleinen, nicht mehr regelmäßig infizierenden Dosen? Da erfährt man zu seiner Ueberraschung, daß der Ausfall eines Meerschweinchenexperimentes schon davon abhängen kann, ob man statt 2,5 nur 0,5 oder gar statt 3,5 nur einen Kubikzentimeter injiziert, und daß schließlich auch die höchsten noch zulässigen Dosen gelegentlich Versager liefern. Soll daran die Keimarmut des Fleckfieberblutes schuld sein, so müßte sie so beträchtliche Grade erreichen, daß sie in unlösbarem Widerspruch mit der raschen Verbreitung des Fleckfiebers durch blut-saugende Läuse stünde. Nach den vielzitierten Untersuchungen von Sikora und Halberkann sowie Widmann beträgt das Gewicht der Blutmahlzeit einer Kleiderlaus 0,0003—0,0008 g; die Chance, daß die Laus selbst durch wiederholte Saugakte infiziert wird, müßte daher mit der Abnahme der Erreger-elemente im Blut bis zu der eben angedeuteten Grenze rapide absinken. Damit läßt sich aber weder die Epidemiologie noch auch das Ergebnis der experimentellen Lausfütterungen, wie sie von da Rocha Lima, mir und Schnabel, Otto und Dietrich angestellt wurden, in Einklang bringen. Man darf also aus der infizierenden Minimaldosis nicht ohne weiteres auf den Reichtum eines Substrates an pathogenen Keimen schließen, wie das da Rocha-Lima oder Landsteiner und Hausmann versucht haben; das geht offenbar nur dann, wenn der als Reagens verwendete empfängliche Organismus für die betreffende Infektion die Einkeimdisposition besitzt, und vor allem auch nur, wenn der Infektionsmodus optimal ist. Mit subkutanen Injektionen könnten Sie z. B. auch den Gehalt einer Blutprobe

an Malariaplasmodien nicht bestimmen, was ich sofort beweisen werde. Ich injizierte 4 Paralytiker zu therapeutischen Zwecken mit derselben Probe Malariablut, stammend von einem unbehandelten Tertianafall, subkutan; die Dosen betrugen 0,25, 0,05, 0,0025 und 0,000125 ccm Blut. Nur der Paralytiker mit 0,0025 ccm bekam Malaria, die 3 anderen blieben bis heute, d. h. durch 1 Jahr fieberfrei. Die Nutzenanwendung ist wohl klar; ich verweise nur darauf, daß unter natürlichen Verhältnissen sowohl die Malariaplasmodien als die Fleckfieberkeime durch das stechende Insekt direkt in die Zirkulation, nicht aber in das subkutane Zellgewebe eingepflanzt werden, und daß es daher nach der Injektion von Parasiten ins Gewebe zu einem Absterben derselben kommen kann, weil man die Anpassung an eine bestimmte Infektionspforte vernachlässigt. Ob nach subkutaner Injektion eine Infektion zustande kommt, wird dann davon abhängen, ob und in welchem Umfange bei dem Eingriff kleine Gefäße eröffnet wurden.

Neben dem Applikationsmodus kann für den paradoxen Ausfall der Menschenexperimente vielleicht noch ein Umstand verantwortlich gemacht werden. Die „besondere Beschaffenheit“ des virushaltigen Materiales besteht ja nicht nur in seinem Gehalt an Erregerelementen, sondern auch in den in diesem Material prävalierenden Entwicklungsstadien der spezifischen Keime und schließlich in der Art, wie sie im Material verteilt und eingeschlossen sind. Man weiß da freilich sehr wenig, aus den Menschenversuchen nur, daß die subkutane Injektion von defibriniertem Blut sicherer zu wirken scheint als die von nicht defibriniertem. Denn in einer Versuchsserie von Hamdi war das Blut sofort nach der Aspiration aus der Vene ohne jede Zwischenmanipulation eingespritzt worden, und von 24 so behandelten Personen erkrankten nicht mehr als 3, was 87,5 Proz. Versagern entspricht. Von dieser Ueberlegenheit des defibrinierten Blutes konnten sich Otto und Dietrich auch durch Peritonealversuche an Meerschweinchen überzeugen.

Was nun die Pathogenität für Versuchstiere anlangt, hat man zwei Dinge zu bedenken. Erstens, daß auch das Fleckfieber des Menschen eine klinisch schwer diagnostizierbare Infektion mit dürftigem und vieldeutigem Symptomenkomplex ist; das wird jeder bestätigen, der vor der Einführung der Roseolendiagnostik und der Weil-Felix-Reaktion viele sporadische Fälle untersucht hat, welche nicht einem einheitlichen Menschenmaterial entstammten, sondern nach Alter, Geschlecht, Rasse und sozialen Verhältnissen differierten; wenn in solchen Fällen der epidemiologische Zusammenhang auf die richtige Vermutung leitete, so war das eben — das ist für unsere Betrachtung wichtig — keine klinische, sondern eine epidemiologische Diagnose. Dasselbe lehrt uns die Geschichte des Fleckfiebers; Männer wie Fracastorius, v. Hildenbrand, Murchison, Botkin, Wunderlich, Griesinger mußten ungeheure Arbeit leisten, um dem Fleckfieber den Rang einer spezifischen Infektion zu erkämpfen, und immer wieder glückte es der Sophistik ihrer Gegner, die Ueberzeugung von der realen Existenz dieser Krankheitsentität ins Wanken zu bringen. Ganz denselben Leidensweg wie sein Paradigma durchmißt nun auch aus analogen Ursachen das Meerschweinchenfleckfieber. — Zweitens soll man berücksichtigen, daß das Fleckfieber je nach der Konstitution und Kondition der erkrankten Individuen alle denkbaren Abweichungen von dem typisch-zyklischen Verhalten, das wir durch Murchison, Wunderlich, Curschmann, Munk und Jürgens kennen lernten, zeigen kann. Das so variable Exanthem kann



ganz fehlen; das Fieber kann jede beliebige Dauer aufweisen, braucht aber auch gar nicht aufzutreten; die Störungen des Allgemeinbefindens sind bei Kleinkindern, zuweilen aber auch bei Erwachsenen so gering, daß die Erkrankung ambulatorisch überstanden wird. Als Belege zitiere ich nur die neueren Angaben von Elias, Bardachzi und Barabas, Popper, Salpeter und Schmitz, Starkenstein, Kollert und Finger, Löwy, Rosenberg, Ficaï, d'Astros und Rousla-croix, Felix, Gérard, Maurice Anrioud, Nicolle und Jean-neret-Minkine. — Keine Frage: es existiert eine Skala von Verlaufsarten, welche alle Varianten vom klassischen Krankheitsbild bis zur völlig latenten Infektion, bis zur „infection inapparente“, wie sie Nicolle genannt hat, umspannt. Von den Faktoren, welche die Schwere des Verlaufes beeinflussen, sind uns genauer bekannt: das Alter, die funktionelle Ueberbeanspruchung des Gehirnes, die Unterernährung und die Rasse, wobei ich in erster Linie an das mit der Brillischen Krankheit vermutlich identische Fleckfieber der russisch-polnischen Juden erinnern möchte.

Bei der weitgehenden Anpassung der Parasiten an bestimmte Wirte werden wir a priori nicht erwarten dürfen, daß das Fleckfieber bei experimentell infizierten Tieren prägnanter zum Ausdruck gelangt als beim Menschen; wir müssen uns vielmehr auf Gegenstücke zu den milderen, abortiven und [infolge der gewaltigen Unterschiede zwischen Menschen- und Tierhaut] exanthemlosen Formen gefaßt machen; wir werden endlich im Hinblick auf die Variationsbreite der Infektion beim Menschen nicht verlangen können, daß der Ablauf bei verschiedenen Individuen einer und derselben Tierspezies absolut gleichartig sei, sondern auch hier einen gewissen Spielraum konzedieren. Das ist nun aber gerade das, was wir de facto beobachten! Dabei hat Nicolle auf eine interessante Beziehung aufmerksam gemacht: die sukzessive Abschwächung, welche das Krankheitsbild durch das abnehmende Alter der Erkrankten innerhalb der Spezies Mensch erfährt, kann erzielt werden, wenn man den Infektionsprozeß in Tierarten von gradweise sinkender Empfänglichkeit ablaufen läßt. Sie finden diese Parallele bei Nicolle weitläufig kommentiert. Ich erwähne nur, daß das Fleckfieber der Anthropoiden, speziell der Schimpansen, und etwa noch des Ateles vellerosus am meisten dem exanthemlosen Fleckfieber des erwachsenen Menschen entspricht; die Infektionen von Macacus-Arten ähneln ebenso wie jene von Meerschweinchen einem rudimentären, exanthemlosen Kinderfleckfieber und die afebrilen, ganz symptomlosen Infektionen des Kaninchens und der Ratte, wie sie von Nicolle und seinen Mitarbeitern, sowie von mir und R. Pick beschrieben wurden, haben ihr Pendant in den „infections inapparentes“ der Neugeborenen.

Es ist somit kein Einwand gegen das Bestehen und den spezifischen Charakter des experimentellen Fleckfiebers, wenn man ihm Symptomenarmut und anomale Verlaufsformen vorwirft; das experimentelle Fleckfieber kann vielmehr nicht leichter diagnostizierbar sein als der Exanthematicus sine exanthemate beim Menschen. In dieses selbstverständliche Verhältnis hat erst die Entdeckung der Reaktion von Weil und Felix eine Aenderung hineingetragen. Beim Menschen begleitet sie auch leichte, abortive oder gar latente Erkrankungen und wird dadurch nach allgemeinem Zeugnis zum wertvollen und, von seltenen Ausnahmen (Croner, Sternberg, Anders, Montefusco, Jakobitz) abgesehen, verläßlichen Behelf. Das Serum fleckfieberinfizierter Meerschwein-

chen dagegen zeigt, das bedarf keiner Bestätigung mehr, keine agglutinierende Wirkung auf X 19-Suspensionen; wie sich in dieser Beziehung Affen verhalten, wurde bisher leider noch nicht untersucht, wäre aber mehr theoretisch, als versuchstechnisch von Belang.

Aus dem Fehlen der X 19-Agglutination beim Meerschweinchen hat man gefolgert, daß das mit verschiedenen Substraten (wie Fleckfieberblut, Blut oder Organemulsion von Passagetieren, Verreibungen infizierter Läuse) erzeugbare Fieber kein Fleckfieber sei. Denn wenn die Reaktion beim Menschen auftritt, so müsse sie auch bei jedem fleckfieberinfizierten Tier vorhanden sein. Da man jedoch vom Mechanismus der Reaktion gar nichts Sicheres weiß, ist dieser Schluß absolut unzulässig. Man kann nicht mehr behaupten, als daß der menschliche Organismus auf die Infektion mit der Produktion flockender Stoffe für X 19 antwortet, und demgemäß verlangen, daß die Reaktion wieder zum Vorschein kommt, wenn man das Virus vom serologisch negativen, aber spezifisch fiebernden Meerschweinchen auf den Menschen rücküberträgt. Solche Versuche wurden bisher nicht veröffentlicht; ich bin aber dessen sicher, daß sie das postulierte Resultat ergeben müssen — in jeder Beziehung. Interessanterweise teilten Weil und Felix vor kurzem mit, sie hätten eine analoge Kombination beobachtet; das Serum von Kaninchen, welche eine oder mehrere intraperitoneale Injektionen mit dem Gehirne fleckfieberinfizierter Meerschweinchen erhalten hatten, agglutinierte X 19 in der H-Form bis 1:500, in der O-Form bis 1:1000. Damit wäre erwiesen, daß im infizierten Meerschweinchen ein Agens existiert, welches zwar nicht in diesem Tiere, wohl aber in einer anderen reaktionsfähigeren Spezies die Bildung der flockenden Stoffe auslöst; obwohl die von Weil und Felix beigebrachten Kontrollen nicht völlig ausreichen, darf man doch vorderhand mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß dieses Agens nichts Anderes sei als der lebende, virulente Fleckfiebererreger.

Daraus erkennt man aber auch, daß das Zustandekommen der Reaktion von der besonderen Beschaffenheit der Tierart entscheidend beeinflusst wird, welcher man das virushaltige Material parenteral zuführt; eine einfache Antigen- oder Agglutinogenfunktion der Erregererelemente kommt in der flockenden Wirkung der Fleckfiebersera nicht zum Ausdruck. Russ und Kirschner erhielten durch intensive Immunisierung von Ziegen mit dem Gehirne fiebernder Meerschweinchen Sera, welche zwar deutlich virulizid waren, also die echten Fleckfieberantikörper enthielten, die aber mit den Aufschwemmungen von X 19 nicht stärker reagierten als vor Einleitung der Behandlung, obwohl die Ziege als guter Agglutininproduzent bekannt ist. Wie sich die von Nicolle dargestellten viruliziden Pferde- und Eselsera gegenüber X 19 verhielten, wurde nicht geprüft. Ueberhaupt wäre hier noch so manche Lücke auszufüllen. Untersuchungen, ob beim fleckfieberimmunen Menschen durch Injektion von lebendem Organ- oder Läusevirus die Weil-Felix-Reaktion hervorgerufen oder gesteigert werden kann, die Verwendung von abgetötetem Virus verschiedener Provenienz an gesunden oder immunen Menschen oder an Kaninchen zum gleichen Zwecke und anders mehr könnten schätzenswerte Aufschlüsse in vielen Belangen bieten, speziell auch darüber, ob es eine Weil-Felix-Reaktion ohne Infektion gibt oder ob hier Verhältnisse wie bei der Wassermann-Reaktion vorliegen. Experimente dieser Art sind derzeit im Hygienischen Institut in Basel im Gange.

Kehren wir zum Meerschweinchenfleckfieber zurück! Einen Beweis für seine Legitimität haben wir soeben kennen gelernt; existieren noch andere Argumente? Gewiß, und ich kann mich da, um oft Gesagtes nicht nochmals breitzutreten, kurz fassen. Hierher gehört: 1) die Tatsache, daß diese Fieberbewegung mit allen Substraten regelmäßig hervorgerufen werden kann, in welchen die Existenz lebender Fleckfieberkeime konstatiert ist, wie z. B. mit Fleckfieberblut oder in welchen sie mit Recht angenommen werden darf wie mit dem Blute und den zerriebenen Organen infizierter Säugetiere oder mit Emulsionen aus infizierten Kleiderläusen. Zu diesen Stoffen, mit welchen man die fragliche Fieberreaktion bei Meerschweinchen provozieren kann, zählt nach den Untersuchungen von Nicolle, Blanc und Conseil, Müller und Urizio, Doerr und Schnabel auch der Kot infizierter Läuse. Aus der Vielheit und Verschiedenheit der Substrate erhellt, daß sie nicht als solche pyrogen wirken können, sondern durch ihren Gehalt an lebenden Infektionskeimen; das ergibt sich ferner aus den minimalen Quantitäten, welche erforderlich sind und bei Passageblut, Organ- oder Lausemulsionen auf Dezimilligramme herabsinken (Landsteiner und Hausmann, da Rocha-Lima, Nicolle); tötet man schließlich die Mikroben auf irgendeine Art ab, so wird damit auch die fiebererzeugende Fähigkeit vernichtet, wofür schon die Arbeiten von Gavilño und Girard, Anderson und Goldberger ausreichende Belege enthalten. 2) Das Fieber der Meerschweinchen ist auf Affen, auf andere Meerschweinchen, auf Kaninchen und Ratten übertragbar und kann auf diese Art beliebig lange im Tiere fortgezüchtet werden. In seiner letzten Mitteilung berichtet Nicolle über eine 5-jährige Kultur in vivo = 175 Passagen. 3) Die Fieberbewegung immunisiert aktiv gegen eine erneute Infektion genau so wie der Mensch nach dem Ueberstehen des Fleckfiebers eine absolute und langdauernde Immunität nicht nur gegen die natürliche Ansteckung, sondern wie Doerr und Starkenstein zeigten, auch gegen die Einspritzung massiver Dosen Fleckfiebervirus erwirbt. Im Tierexperiment erweisen sich dabei die verschiedensten virushaltigen Substrate als immunisatorisch gleichwertig, d. h. das Fieber nach einer Injektion von Fleckfieberblut schützt das Meerschweinchen gegen den pyrogenen Effekt einer virulenten Lausemulsion und umgekehrt, ein weiterer Beweis, daß das Fieber auf eine gemeinsame spezifische Komponente der injizierten Substrate zu beziehen ist und nicht als aspezifisches Proteinfieber aufgefaßt werden kann. 4) Gesellt sich dazu der Nachweis jener herdförmigen, perivaskulären Zellanhäufungen, welche ihren Ausgang von Endothelerkrankungen kleiner Gefäße nehmen, und ein komplettes Analogon zu den histologischen Veränderungen bilden, welche Fränkel, Ceelen, Jaffé u. a. in den Organen von Fleckfieberleichen beobachten konnten. Beim Meerschweinchen ist ihre Existenz von Löhlein, Otto und Dietrich, Doerr und Kirschner, Kuczynski, K. Nicol, Grzywo-Dabrowski u. a. bestätigt worden.

Berücksichtigt man, daß alle bisher angeführten Befunde und Behauptungen mit einem ganz außergewöhnlichen Tieraufwand und von den verschiedensten Experimentatoren nachgeprüft und verifiziert wurden, so darf die Streitfrage, ob Meerschweinchen mit Fleckfieber infiziert werden können, als im positiven Sinne erledigt gelten. In diesem Punkte ist die oppositionelle Haltung von Friedberger und Zlocisti unbegründet. Anders liegt aber die Situation, wenn man die versuchstech-

nische Brauchbarkeit und die Eindeutigkeit des Meerschweinchenfiebers zur Diskussion stellt. Nehmen wir zunächst an, es würden keine groben Fehler hinsichtlich der Wartung der Tiere, ihres Aufenthaltes in einer gleichmäßig temperierten, warmen Luft, der aseptischen Kautelen bei den Injektionen und vornehmlich bei der analen Messung der Körpertemperatur gemacht, von der nach Nicolles Ausspruch nur wenige Leute etwas verstehen und die man keinesfalls einem Laboratoriumsdiener überlassen sollte. Wie sehen dann bei Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln die Temperaturkurven aus? Gibt es typische Fieberreaktionen oder nicht? Diese Frage darf ich wohl auf Grund meiner Erfahrung ohne Zögern bejahen. Der Typus ist durch eine mindestens 5-tägige, maximal 21-tägige Inkubation, einen raschen Temperaturanstieg auf 39,8 bis 41° C, eine 4—11-tägige Fieberdauer und einen staffelförmigen Abfall ausgezeichnet und findet sich in einem sehr hohen Prozentsatz bei vorher ganz normalen Tieren, denen man Passagevirus intraperitoneal oder intrazerebral einspritzt. Nach Passagevirus sind auch die Inkubationszeiten konstant und dabei kurz, so daß Nicolle den Ausdruck „virus fixe“ gebraucht, eine Bezeichnung, vor deren präjudizierlichen Bedeutung ich eindringlichst warne.

Den typischen stehen jedoch leider zweifelhafte Reaktionen gegenüber, welche sich bei Tieren, die schon vorher einen Eingriff irgendwelcher Art mitmachen mußten, häufen können. Sie weichen von dem Typus durch abnorme Inkubationen (weniger als 5 Tage), durch kurze Dauer (weniger als 4 Tage), durch zu niedrige Maxima (unter 39,5° C) oder durch starke Intermissionen ab. Ferner berechtigt das gänzliche Ausbleiben der Fieberbewegung durchaus nicht zu dem Schlusse, daß das betreffende Tier nicht infiziert wurde; wie Nicolle wiederholt nachwies, kann hier eine latente, afebril verlaufende Infektion bestehen. Nach Nicolle und Lebaillly soll es sogar bis zu einem gewissen Grade in der Hand des Experimentators liegen, solche symptomlose Infektionen zu erzeugen, indem man sich minder wirksamer Uebertragungsmethoden (z. B. der intramuskulären Virusinjektion) bedient.

Andere klinische Erscheinungen als Fieber bieten die infizierten Meerschweinchen nicht dar; alles, was darüber mitgeteilt wurde, ist, sofern es überhaupt mit der Infektion zusammenhängt, inkonstant, für die Deutung der Versuche wertlos.

Und so gelangt man, falls man kritisch und gewissenhaft genug ist, von selbst zu der ebenso unangenehmen wie a priori verständlichen Konsequenz: die Fieberbewegung allein genügt, selbst wenn sie dem Typus entspricht, nicht, um das Vorhandensein oder das Fehlen der Fleckfieberinfektion beim Meerschweinchen in jedem Einzelfalle aus dem Bereiche der Vermutung oder Wahrscheinlichkeit in jenes der Gewißheit zu rücken. Das Fieber muß vielmehr durch alle negativen und positiven Kriterien definiert resp. agnosziert werden; man muß mit einem Worte den generellen Beweis für die spezifische Natur des Meerschweinchenfleckfiebers in jedem speziellen Falle wiederholen. Es sind somit festzustellen: 1) die Uebertragbarkeit; 2) die spezifisch immunisierende Wirkung; 3) der histologische Befund im Zentralnervensystem; 4) der negative makroskopische Sektionsbefund, um Eiterungen, Peritonitis, Pneumonie, Pseudotuberkulose etc. auszuschließen; 5) endlich auch die Fähigkeit des virushaltigen Gehirnes, beim intraperitoneal infizierten Kaninchen die Produktion von X19-Agglutininen anzuregen. Die letzt-

genannte Probe, welche Weil und Felix in ihrer neuesten Publikation kurz als „Kaninchenversuch“ bezeichnen, könnte, wie leicht einzusehen, an Wert gewinnen und in der Folge die anderen aufgezählten Kriterien in den Hintergrund drängen oder ganz überflüssig machen. Weil und Felix meinen, daß der Rückübertragung vom Meerschweinchen auf das Kaninchen die Dignität eines Menschenversuches zukomme, was ohne Rückhalt zugegeben werden muß, wenn diese neue Reaktion konstant, empfindlich und für lebendes Fleckfiebertvirus spezifisch oder absolut charakteristisch ist. In den ersten beiden Richtungen teilen Weil und Felix selbst sehr zufriedenstellende Ergebnisse mit; in ihren Versuchen ergab schon die einmalige intraperitoneale Injektion von Meerschweinchengehirn höchst selten Versager, die Sera der Kaninchen agglutinierten die O-Form meist in beträchtlicher Verdünnung und die Agglutininproduktion ließ sich schon durch minimale Dosen virushaltigen Materiales erzwingen (0,001—0,05 Gehirn). Aber es existieren auch gegenteilige Angaben, z. B. die von Doerr und R. Pick, welche durch einmalige intraperitoneale, intravenöse, subkutane oder intrazerebrale Injektion von Kaninchen mit dem virulenten Hirnbrei von Passagemeerschweinchen keine höheren Agglutinititer für X19 bekamen als 1:20; ganz dieselben Erfahrungen machten neuerdings Russ und Kirschner bei wiederholter intraperitonealer Injektion von drei Kaninchen. Die sehr erwünschte Vereinfachung und die gesicherte Deutung der Fleckfieberexperimente wird somit von der Nachprüfung der bemerkenswerten Arbeiten von Weil und Felix abhängen; eine wesentliche Verbilligung der kostspieligen Versuchsanordnungen würde sich allerdings auch auf diesem Wege nicht erreichen lassen. Bis auf weiteres sind jedenfalls auch die 4 zuerst aufgezählten Eigenschaften des Meerschweinchenfleckfiebers festzustellen.

Das Schema, nach welchem dies bei jedem einzelnen Tier möglich gemacht wird, habe ich und Kirschner in Nr. 36 der Med. Klinik von 1919 angegeben. Das Wesen desselben besteht darin, daß man das Versuchstier rechtzeitig tötet und nach Erhebung des negativen Sektionsbefundes mit den Organemulsionen Uebertragungen auf andere Meerschweinchen ausführt; gehen letztere an, so gewinnt man Material für alle anderen Untersuchungen. Der Vorteil der Methode liegt in dem Umstande, daß sie das Kriterium der Uebertragbarkeit in den Vordergrund stellt, aber auch alle anderen Eigenschaften berücksichtigt und durch Prüfung derselben an mehreren Tieren den individuellen Faktor eliminiert. Latente Infektionen sind natürlich nur zu erkennen, indem man sie durch geeignete Passagen in manifeste transformiert.

Dieser Weg ist sehr kompliziert und mühevoll, aber bei Experimenten, welche über die einfache Fortzüchtung in vivo hinausgehen, nicht zu umgehen. Friedberger hält übrigens auch von den Garantien, die auf diese Art erzielt werden, nichts, da ja doch schließlich alles wieder auf Fieberreaktionen hinauslaufe. Das ist unrichtig. Abgesehen davon, daß auch histologische und serologische Momente herangezogen werden, ist es nicht dasselbe, ob ich aus der Fieberkurve eines Tieres einen Schluß ableite oder ob ich das Fieber mehrere komplizierte Bedingungen erfüllen lasse, bevor ich mich zu einer Aussage über seine Natur entschieße.

Als Resumé erfließt folgende Betrachtung: Es ist richtig und mehrfach bewiesen, daß die morphologische Kenntnis der Erreger und ihre Reinzüchtung im Reagenzglas keine unerläßlichen Vorbedingungen für die

Erforschung der Infektionskrankheiten bilden, sondern daß sich mit Hilfe der spezifischen Pathogenität eine Reihe der wichtigsten Tatsachen ermitteln läßt. Technisch bequem und in der Deutung zuverlässig ist aber dieses funktionelle Merkmal der Krankheitskeime nur dann, wenn es im Tierversuch konstant und prägnant zum Ausdruck gelangt; das trifft nun beim Fleckfiebertypus nicht ganz zu, und so hat hier die Frage nach dem mikroskopischen Nachweis der Erreger ihre Bedeutung als Arbeitsmethode stärker bewahrt als anderwärts.

Daß dieser Nachweis erbracht werden kann, ist bekanntlich an die Vorbedingung geknüpft, daß die betreffenden Keime nicht in die Gruppe der invisiblen, ultramikroskopischen Vira gehören, daß sie also die gebräuchlichen Filter nicht passieren. Da Rocha-Lima hat aus der umfangreichen Literatur dieses Kapitels und an der Hand eigener Erfahrungen gezeigt, daß es bisher kein einziges Mal einwandfrei geglückt ist, mit filtrierten virushaltigen Substraten Infektionen zu erzeugen. Das einzige, im gegenteiligen Sinne gedeutete Experiment von Nicolle läßt auch eine andere Interpretation zu und ist dadurch entwertet, daß sich dieser Autor durch drei spätere Versuche überzeugen konnte, daß das Virus aus infizierten Läusen de facto nicht einmal leicht permeable Kerzen passiert. Nicolle spricht nunmehr selbst in abfälligem Tone vom Dogma der Invisibilität des Fleckfiebertypus.

Wir dürfen somit ein mikroskopisches Gebilde erwarten und suchen. Handelt es sich bei derartigen Befunden um isolierbare Bakterien, so werden wir fordern, daß sie ihre ätiologische Beziehung zum Fleckfieber durch jene Pathogenität dokumentieren, welche den zweifellos virushaltigen Stoffen, speziell dem Fleckfieberblut eignet. Sie müssen also beim Meerschweinchen die typische, unbegrenzt überimpfbare, spezifisch immunisierende Fieberreaktion hervorrufen, sie müssen bei dieser Tierspezies die charakteristischen histologischen Veränderungen im Gehirne erzeugen; voll befriedigt werden wir uns jedoch erst erklären, wenn die Kette durch den konstanten und ausschließlichen Nachweis in der infizierten Kleiderlaus zum Ring gefügt ist. In diesen Punkten versagten aber alle bisher beschriebenen Bakterien, der *Bacillus typhi exanthematici* von Plotz nicht minder wie die X-Stämme von Weil und Felix oder die Diplobazillen von Hoogenhuyze u. m. a.

Behaupten konnte sich nur die *Rickettsia prowazekii*, ein in der Kleiderlaus entdeckter Parasit, dessen bakterielle Natur an Wahrscheinlichkeit stetig gewinnt. Die von da Rocha-Lima mit großer Zurückhaltung geäußerte Vermutung, es könnte sich hier um den so lange gesuchten Fleckfiebererreger handeln, gründete sich zunächst auf die unter verschiedenen natürlichen und experimentellen Bedingungen zutage tretende Koinzidenz zwischen Rickettsiengehalt der Kleiderläuse und ihrer Infektiosität, soweit sich diese im Meerschweinchenversuch durch intraperitoneale Injektion der zerriebenen Insekten feststellen ließ. Dieser Parallelismus war jedoch kein durchgängiger und die Hypothese erlitt daher einen argen Stoß, als Rickettsien auch in Läusen von Wolhynikern, Nephritikern und gesunden Menschen sowie in der Schaflaus (*Melophagus ovinus*) gefunden wurden. So konnte beispielsweise E. Brumpt bei 72 Läusen, welche von vollkommen gesunden Kriegsgefangenen in Rennes gesammelt worden waren, nicht weniger als 53mal Rickettsien nachweisen und leugnet daher ihre ätiologische Rolle entschieden. Aber da Rocha-Lima zeigte an Paraffin-

schnitten, die nach Giemsa gefärbt waren, daß man nach den morphologischen Details, nach dem tinktoriellen Verhalten und namentlich nach den eigentümlichen Lagebeziehungen zum Wandepithel des Lausdarmes drei Rickettsienkategorien unterscheiden könne: die *Rickettsia prowazeki*, die *Rickettsia melophagi* und die *Rickettsia pediculi*. Die beiden ersten Namen sollten den biologischen Wert von Speziesbezeichnungen haben, der dritte eine vorläufig nicht in Arten zerlegbare Untergruppe repräsentieren. Die Spezifität der *Rickettsia melophagi* erhielt noch eine weitere Stütze durch ihre von Nöller realisierte Reinkultur; bei den anderen Rickettsien glückte die Züchtung anfänglich nicht, aber die Ergebnisse bei der Schaflausrickettsie blieben für sie insofern nicht irrelevant, als man jetzt kaum mehr zweifeln konnte, daß sie Mikroorganismen und nicht etwa irgendwelche Zellgranula seien. Nachgeprüft wurden die Angaben von da Rocha-Lima wegen der schwierigen Technik, zum Teil auch wegen Materialmangel nicht; die Originalpräparate, welche mir da Rocha-Lima freundlichst lieh, bestätigen jedoch seine Ausführungen vollinhaltlich — falls sie regelmäßigen Befunden und nicht Extremen entsprechen, deren differentialdiagnostischer Wert durch fließende Uebergänge aufgehoben wird. Wenn aber auch die Rickettsie der Fleckfieberläuse mikroskopisch von anderen Rickettsien nicht abgegrenzt werden könnte, so läge darin — wie da Rocha-Lima mit Recht betont — kein Grund, ihr den Charakter des Fleckfiebererregers definitiv abzusprechen. Es bliebe noch immer die experimentelle Erzeugung der Rickettsien durch Fütterung der Läuse an Fleckfieberkranken, ihr Fehlen nach Fütterung mit Rekonvaleszentenblut, die Rickettsienfreiheit und Nicht-infektiosität in der Reifungsperiode etc., Beziehungen, welche nicht nur durch Angaben von da Rocha-Lima, sondern auch durch Töpfer, Töpfer und Schüssler, Nöller, Otto und Dietrich, Jungmann und Kuczynski und durch die Berichte des Service Sanitaire officiel de Hollande 1917 (zit. nach Gérard) so weit gesichert erscheinen, daß man für die schroffe Ablehnung der *Rickettsia prowazeki* ohne gründliche Nachprüfung kein Verständnis aufbringen kann. Dialektisch werden sich diese Dinge nicht erledigen lassen.

In den Speicheldrüsen infizierter Läuse konnte selbst die virtuose Technik einer H. Sikora keine Rickettsien nachweisen, obwohl es ungeachtet der Infektiosität frischen Läusekotes doch höchst wahrscheinlich ist, daß der Uebergang des Virus auf den Menschen durch den Biß der Laus vermittelt wird und obwohl die Zoologen eine Regurgitation von Mageninhalt aus anatomischen Gründen für unwahrscheinlich erklären. Hier könnte sich indes bei besserem Einblick noch immer ein Ausweg eröffnen. Was aber unter allen Umständen gefordert werden muß, ist der Nachweis von Rickettsien im Organismus fleckfieberkranker Menschen und experimentell infizierter Laboratoriumstiere. Gerade auf diesem Gebiete werden nun Ergebnisse mitgeteilt, welche einen enormen Fortschritt bedeuten würden, wenn sie allgemein bestätigt und hinsichtlich ihrer Methodik soweit vereinfacht werden könnten, daß sie ein Werkzeug zur Lösung neuer Fragestellungen bilden.

Ich meine zunächst die Arbeiten von Kuczynski, Kuczynski und Jaffé sowie die davon unabhängigen von Wolbach und Tood, welche sich auf Tabardillomaterial beziehen. In Paraffinschnitten aus Fleckfieberorganen, die nach Giemsa oder gewissen Modifikationen der Giemsa'schen Technik gefärbt waren, fanden sich Gebilde, welche stets



in Kapillarendothelien lagen, von einer hofartigen Aufhellung des Protoplasmas der Wirtszelle umgeben waren, die Hantel- oder Diploform der Läuserickettsien aufwiesen und letzteren auch nach Größe und Farbnuance völlig glichen. In der Leber waren die befallenen Endothelzellen mehr diffus über das Parenchym zerstreut; wo sich dagegen die charakteristischen perivaskulären Zellaggregate bilden, wie im Gehirn infizierter Menschen oder Meerschweinchen oder in den Effloreszenzen der Haut (Wolbach und Tood), da lagen die Rickettsiaformen gerade in einer Endothelzelle des zentralen präkapillaren Gefäßes und diese Endothelzelle war gequollen, desquamiert und bot das Bild der fortschreitenden Nekrose in ihren verschiedenen Stadien. Zwischen den Befunden von Kuczynski und jenen von Wolbach und Tood besteht scheinbar eine Differenz: im Gehirne sah man im Zytoplasma einer Endothelzelle nur eine einzige, höchst selten zwei Rickettsien, während in den Hauteffloreszenzen des Tabardillo ganze Haufen der fraglichen Gebilde von einer Zelle phagozytiert waren. Vielleicht ist jedoch die Verteilung wirklich ungleichmäßig; in den Kupferschen Sternzellen der menschlichen Leber beobachtete ja auch Kuczynski die Anordnung der Rickettsien in intrazellulären Klumpen. Da beim Tabardillo nur die Haut, beim europäischen Fleckfieber nur die Innenorgane untersucht wurden, erscheint derzeit eine Aussage unmöglich. Eine hochgradige Anreicherung des Virus im Wandbelag der Hautgefäße im Sinne des von Lipschütz angenommenen Dermotropismus wäre jedenfalls auch teleologisch für die Erleichterung der Virusaufnahme durch die Laus verständlich.

Kuczynski und Jaffé zögern nicht, die intrazellulären Diploformen mit der *Rickettsia prowazeki* zu identifizieren. Wolbach und Tood wollen über ihre Beziehung zur Rickettsie der Fleckfieberläuse kein Urteil abgeben, halten aber die von ihnen beschriebenen und abgebildeten Körperchen doch auch für Parasiten; sie meinen, daß dieselben den analogen Gebilden des Rocky Mountain Spotted Fever verwandt sind und schlagen die wohl ganz überflüssige neue Bezeichnung *Dermacentroxenus typhi* vor. Gewitzigt durch Erfahrungen, über welche auch die Fleckfieberliteratur zu berichten weiß, wird man sich das Recht auf Nachprüfung und abwartende Haltung nicht nehmen lassen. Prinzipielle Skepsis wäre aber kontraindiziert, da morphologische Gründe gegen die Identifizierung mit Rickettsien nicht existieren, und da die Lagerung im geschädigten Gefäßendothel der Fleckfieberknötchen für die pathogene Bedeutung der intrazellulären Diploformen spricht; diese Lagebeziehung bringt sogar eine nachträgliche Bestätigung der Theorie von Herzog, welche nur auf das histologische Bild basiert war und die Ursache für das Entstehen der charakteristischen Zellherde in einer durch hämatogene Noxen herbeigeführten Endothelnekrose erblickte.

Der mikroskopische Nachweis im Gewebe steht überdies heute nicht mehr isoliert da: Kuczynski hat ihn durch die Reinkultur zu ergänzen gesucht und sich trotz großer Schwierigkeit den Weg zu Ergebnissen gebahnt, deren ausführlicher Mitteilung mit Spannung entgegengesehen werden darf. Sie wissen, daß man die *Rickettsia melophagi* relativ leicht in dem von Nöller angegebenen Traubenzuckerblutagar züchten kann, ja daß vielleicht auch ein Repräsentant aus der Gruppe der *Rickettsia pediculi* in Ascitesagar zur Vermehrung gebracht wurde, obwohl die betreffende Angabe von Werner und Benzler nicht eindeutig ist; die Kultivierbarkeit der Rickettsien war daher schon vor Kuczynski



grundsätzlich entschieden. Da aber einfache Methoden wie die erwähnten bei der Fleckfiebrickettsie versagten, stellte sich Kuczynski, von interessanten theoretischen Erwägungen geleitet, eine besondere Nährlösung her, welche aus Hirudin- oder Zitratplasma (vom Menschen oder Meerschweinchen) bestand, dem im Verhältnis von 2:7 hydrolytisch abgebautes Menschenblut zugesetzt wurde. 9 Teile dieser Nährflüssigkeit vermengte Kuczynski mit 1 Teil fein verriebenen, in Ringer-Lösung emulgierten Gehirnes von fleckfieberinfizierten Meerschweinchen, füllte das Gemisch in Celloidinsäckchen, verschloß letztere nach der Methode von Schmitz und versenkte sie in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Als Kontrollen dienten dieselben, aber im Reagenzglas aufbewahrten Gemenge, bei welchen also nur die Möglichkeit des Stoffaustausches zwischen Kulturmedium und freier Peritonealflüssigkeit ausgeschaltet war. Diese Kontrollen büßten ihre Virulenz nach längstens 48 Stunden völlig ein und ergaben mikroskopisch Befunde, welche keine morphologischen Einzelheiten erkennen ließen. Wurden dagegen die Säckchen nach 3–10 Tagen aus der Bauchhöhle entfernt, so vermochte ihr Inhalt auf Meerschweinchen spezifisch pathogen zu wirken: die damit inokulierten Tiere fieberten nach 4–18-tägiger Inkubation typisch, zeigten den charakteristischen Knötchenbefund im Gehirn und wurden nach dem Ueberstehen des Fiebers gegen Passagevirus immun. Mit dem Gehirno der durch Kulturvirus infizierten Meerschweinchen konnten neue Züchtungen in Kollodiumsäckchen angelegt werden; ebenso glückte die Ueberimpfung des Säckcheninhaltes auf neue Säckchen, also die zweite direkte Nährbodenpassage ohne Einschaltung einer Meerschweincheninfektion.

In allen Fällen aber, in denen die Prüfung des Säckcheninhaltes im Meerschweinchenversuch ergab, daß das eingesäte Fleckfiebertvirus lebend und virulent geblieben war, lieferten auch die mikroskopischen Präparate nach intensiver Giemsa-Färbung und bei der Durchmusterung mit leistungsfähigen Linsen eigentümliche Bilder, bestehend aus einer ungeheuren Menge kleinster azurroter Einzelkörnchen, neben welchen vereinzelt Diploformen, Ovoide und Kokkobazillen zu beobachten waren. Morphologisch glichen die Formelemente den Rickettsien der Fleckfieberläuse und erinnerten auch sehr an die Gestalt der Schaflausrickettsien im Kulturausstrich. Kuczynski hält ihre Identität mit der *Rickettsia prowazekii* für erwiesen, deren ätiologische Bedeutung als Fleckfiebererreger nach Erfüllung sämtlicher von J. Henle und R. Koch formulierten Postulate endgültig außer Zweifel gestellt sei. Wir wollen hoffen, daß wir uns dieser Ansicht in kurzer Zeit ohne Vorbehalt anschließen dürfen, sobald exakte Versuchsprotokolle publiziert und bestätigende Resultate von anderer Seite erzielt sein werden. Ich betone übrigens, daß ich den Inhalt der Abhandlung Kuczynskis über „die Kultur der *Rickettsia prowazekii* aus dem fleckfieberkranken Meerschweinchen“ nur skizzieren konnte, und daß die Lektüre des Originals unabweislich ist. Ich vermag von den vielen bedeutsamen Einzelheiten nur noch zwei hervorzuheben. Nämlich erstens, daß Kuczynski seine Rickettsienkulturen aus Meerschweinchenorganen (Milz, Leber) bereits anlegen konnte, wenn die Tiere sich noch in der Inkubation befanden, was gut mit den tierexperimentellen Untersuchungen stimmt, welche ich und R. Pick sowie Gamaleia über das Erscheinen und Verschwinden des Virus im Körper des infizierten Meerschweinchens angestellt haben. Zweitens gibt Kuczynski an, daß die Züchtung in heterologem Men-

schenplasma die Inkubationszeit der mit den Kulturen infizierten Meerschweinchen bedeutend verlängere; in homologem Plasma gewachsenes Virus sei durch eine kürzere Latenzperiode charakterisiert. Das wäre natürlich eine sehr plausible Erklärung für die kurzen Inkubationen nach Infektion mit Passagevirus (auch mit Virus der 1. Passage) gegenüber den langen Intervallen, nach denen das Fieber auftritt, wenn man Fleckfieberblut vom Menschen dem Meerschweinchen injiziert; es böten sich hier auch Aussichten, dem alten und ungelösten Problem der Inkubation näherzutreten, was Kuczynski selbst in einem wesentlich anderen Zusammenhang andeutet. Ich verfüge jedoch über Beobachtungen, auf die ich mich hier nicht einlassen kann, die mich bestimmen, die Theorie von der Verlängerung der Inkubation durch Züchtung in heterologem Plasma, so bestechend sie erscheinen mag, abzulehnen. Desgleichen rate ich zur Vorsicht, wenn man Beziehungen zwischen Inkubation und einverleibter Virusmenge konstruieren will; die Relation existiert, wie nicht anders zu erwarten, aber sie wird von einer Anzahl von Faktoren beherrscht, die wir nur mangelhaft kennen. Darüber werde ich mit Kirschner an anderer Stelle Mitteilung machen.

Gestatten Sie, meine Herren, noch einige kurze Hinweise auf die Fleckfieberimmunität. Die gesicherten Kenntnisse über dieses spezielle Thema können ja leider mit ein paar Sätzen abgefertigt werden, denen man folgende Fassung geben darf: 1) Das Ueberstehen der Infektion hinterläßt eine absolute Immunität sowohl beim spontan erkrankten Menschen wie bei den experimentell infizierten Tieren. Der durchseuchte Mensch ist nicht nur gegen die natürliche Ansteckung, sondern auch gegen die subkutane Injektion massiver Dosen Passagevirus refraktär (Doerr und Starkenstein). 2) Im Verlaufe der Infektion gewinnt das Blutserum beim Menschen, Affen und Meerschweinchen virulizide Eigenschaften; ähnliche Sera lassen sich durch Immunisierung von Pferden, Eseln (Nicolle und Blaizot) oder Ziegen (Russ und Kirschner) mit virulenten Meerschweinchenorganen darstellen. Ob die parenterale Zufuhr von abgetötetem Virus dem Serum gleiche Kräfte verleiht, ist nicht geprüft worden. Virulizide Sera schützen empfindliche Tiere gegen die Infektion, wenn sie mit Virus gemischt oder getrennt und gleichzeitig oder prophylaktisch oder postinfektionell einverleibt werden. 3) Die aktive Immunität nach dem Ueberstehen der Infektion kann nicht humoral erklärt werden, da die Virulizidie des Serums bald schwindet, die Immunität dagegen sehr lange anhält.

Was darüber hinausgeht, ist entweder terra incognita oder strittiges Gebiet. Zum Teil sind die bestehenden Unklarheiten durch die lückenhaften Daten über die erworbene Immunität des Menschen begründet. Wir wissen nichts Zuverlässiges über ihre Dauer, über Unterschiede im refraktären Verhalten, welche von der Schwere der Krankheit oder vom Alter und von der Rasse des durchseuchten Individuums, oder von der Länge des Zeitintervalles abhängen, welches seit der immunisierenden Infektion verstrichen ist. Epidemiologische Erfahrungen, denen erst seit Einführung der Reaktion nach Weil-Felix ein Wert beizumessen ist, werden die nötigen Aufschlüsse kaum vor Ablauf von zwei Dezennien liefern, und es wäre daher eine Beschleunigung durch Versuche an fleckfieberimmunen Aerzten willkommen. Denn schon die eine Frage, ob leichte Infektionen immunisieren, und in welchem Grade, erscheint mir von größter Tragweite; von ihrer Beantwortung hängt meines Erachtens derzeit die Möglichkeit einer Schutzimpfung gegen Fleckfieber ab und

von dieser wieder die Ausrottung der Seuche in den großen Fleckfieberdistrikten des Ostens.

Liest man allerdings Berichte über die verschiedenen Impfverfahren, welche bisher an Menschen angewendet oder (wie man irreführend sagt) erprobt wurden, so könnte man meinen, es gäbe keine simplere Aufgabe als diese. Was versucht wurde, hat sich auch angeblich bewährt, gleichgültig ob der Impfstoff aus Rinderpestserum (Hamdi), aus virulizidem Pferdeserum (Lebailly und Poirson), aus dem Serum oder Blut von Fleckfieberkranken auf der Höhe des Prozesses oder von Rekonvaleszenten (Neukirch, Hamdi, Lebailly und Poirson), aus dem Serum fleckfieberinfizierter Meerschweinchen (Nicolle), aus irgendwelchen Bakterien (Caldwell, Hilgermann und Arnoldi, Robertson, Petruschky, Olitsky), aus phenolisierten Läuseextrakten (da Rocha-Lima, Martini) oder dergleichen hergestellt wurde. Der Wille, wirksam zu impfen, scheint — wenigstens für die Beurteilung — maßgebender zu sein als die Methode.

Das Experiment spricht eine andere Sprache. Es läßt eine passive Schutzimpfung mit virulizidem Serum zu Recht bestehen, wobei man jedoch verlangen müßte, daß der virulizide Titer bei jeder Serumprobe die am Menschen zu Impfpurposes benützt werden soll, vorher im Tierversuch ausgewertet wird. Nach den Arbeiten von Nicolle, Doerr und R. Pick, Russ und Kirschner bestehen zwischen den verschiedenen Sera beträchtliche Differenzen, und es gibt auch genug Proben, welche das Virus nicht stärker beeinflussen als Normalsera der gleichen Art. Für Massenimpfungen würden sich natürlich nur Tiersera eignen; die Dauer des Impfschutzes wäre aber danach noch enger begrenzt, als das bei der passiven Serumprophylaxe ohnehin der Fall ist. Für Entseuchungszwecke kommen jedenfalls nur die nachhaltig wirkenden aktiven Immunisierungen in Betracht.

Es lag daher nahe, nochmals die ausgefahrene Bahn der Impfung mit abgetötetem Virus zu betreten. Nun ist es mir aber in sehr sorgfältigen Experimenten mit Schnabel im Gegensatz zu da Rocha-Lima nicht geglückt, Meerschweinchen auf diese Art aktiv zu immunisieren, obwohl ich die Versuchsanordnungen mannigfach modifizierte. Ich war schließlich zu der Annahme genötigt, daß die antiinfektionelle Immunität gegen Fleckfieber nur durch den Infektionsablauf herbeigeführt werden könne.

Wie sehr diese Behauptung zutrifft, geht aus zahlreichen neueren Versuchen von Nicolle, Nicolle und Blaizot, Russ und Kirschner hervor. Injiziert man nämlich Affen oder Meerschweinchen mit Gemischen von Virus und virulizidem Serum oder spritzt man das Antiserum postinfektionell ein, so kann jede fieberhafte Reaktion ausbleiben; solche Tiere sind nun meist nicht immun. Die Verhinderung der Infektion verhindert auch die Entwicklung der Immunität, obzwar die Abtötung der Erregerzellen erst im Tierkörper und unter Bedingungen vor sich geht, welche den Verhältnissen bei der natürlichen Heilung am besten entsprechen. Doerr und R. Pick konnten auch scheinbare Ausnahmen von dieser Regel beobachten und hielten dieselben fälschlich für gesetzmäßig; solche Ausnahmen beruhen, wie Doerr und R. Pick selbst vermuteten, darauf, daß das Serum in diesen Fällen das Virus nicht abtötet und den Infektionsablauf nicht völlig hindert, sondern nur so weit abschwächt, daß es zu einer infection inapparente kommt. Mit dieser Korrektur, welcher ich meine eigenen Angaben über die immuni-

sierenden Effekte von apathogenen Virus-Serumgemischen unterziehen muß, schwindet die Hoffnung, einen soliden Impfschutz unter Vermeidung jeder Impffolge zu erzielen, derzeit gänzlich.

Es erübrigt also nunmehr die Nutzbarmachung der abortiven Infektionen. Da meint aber Nicolle, daß nur die schwere Fleckfieber-attacke einen absoluten und langen Schutz biete, daß dagegen abortive Reaktionen unsicher wirken, nur in einem gewissen Prozentsatz empfängliche Tiere refraktär machen. Dann wäre auch dieser Weg verrammelt; ich halte aber die Angelegenheit noch nicht für spruchreif und weitere Versuche speziell an Menschen, welche verschiedenen schwere Infektionen durchgemacht haben, für aussichtsreich. Denn die Identifizierung von schwerer Erkrankung und schwerer Infektion scheint mir nicht zulässig. Das Meerschweinchen ist stark infiziert, aber kann nicht eigentlich als „krank“ gelten, wenn man von der Erhöhung der Körpertemperatur abieht, welche diese Tiere anscheinend ausgezeichnet vertragen; es erwirbt aber eine absolute Immunität von einer im Verhältnis zum erreichbaren Alter sehr langen Dauer. Hier sollte somit erneute begriffliche und experimentelle Arbeit einsetzen.

Die Serotherapie des Fleckfiebers hat bis jetzt keine entscheidenden Erfolge aufzuweisen. Ueber die Behandlung mit Rekonvaleszentenserum haben schon Anderson und Goldberger (1912) den Stab gebrochen und neuere Mitteilungen von Nicolle und Blaizot, Gérard, Ciuca, Galesesco und Kyriazidis bestätigen diese abfällige Kritik. Die antiexanthematischen Sera, welche Nicolle von Pferden und Eseln gewann, schienen zunächst Besseres zu leisten; Potel erstattete einen sehr optimistischen Bericht über 31 damit behandelte Fälle, welche Dosen von 5–10–20 ccm subkutan, und zwar täglich bis zur Entfieberung erhalten hatten. Die Mortalität war niedrig (3 Proz.), aber nicht niedriger als man bei kräftigen, jungen Männern und tadelloser Spitalspflege auch ohne spezifische Therapie erwarten durfte; obwohl die Injektionen häufig schon bald nach Krankheitsbeginn ausgeführt werden konnten, läßt sich aus den meisten Kurven in der Mitteilung von Potel keine Abkürzung der Krankheitsdauer herauslesen. Unter minder günstigen Umständen, welche dem Serum als Prüfstein hätten dienen können, versagte dasselbe. Cantacuzène und seine Schüler (Gérard und Ciuca) verzeichneten in Rumänien unter 17 mit dem Serum Nicolles gespritzten Fällen 5 Tote (= 34 Proz.); sie äußern sich daher begreiflicherweise sehr zurückhaltend, um so mehr, als auch höhere Serumquantitäten (40–50 ccm) keine deutlichere Wirkung ergaben. Ebenso sah Kyriazidis<sup>1)</sup> in Griechenland keine Beeinflussung des Krankheitsverlaufes.

Meiner Ansicht nach wäre aber eine andere Anwendung der antiexanthematischen Tiersera sehr zweckmäßig, allerdings nur unter speziellen Verhältnissen. Wir wissen aus den Untersuchungen von Nicolle und Blaizot, Anderson und Goldberger, Doerr und R. Pick, daß virulizide Sera die Infektion auch verhindern oder abschwächen

1) Kyriazidis will dagegen ausgezeichnete Resultate bei 10 Fällen erzielt haben, welchen er bei 56° C abgetötete und überdies phenolisierte Kulturen von X 19 subkutan oder intravenös in steigender Dosis (von 25 Millionen Bazillen pro die bis zu 100 Millionen, je nach den klinischen Erscheinungen und den Injektionsfolgen) einspritzte. Die Entfieberung soll am 3. oder 4. Tag nach Beginn der Behandlung eingetreten sein. Bei dem Charakter dieser vorläufigen Mitteilung ist eine Kritik unmöglich, natürlich auch jede Nutzenanwendung auf theoretische Streitfragen.

können, wenn sie in der Inkubationsperiode injiziert werden. Es ereignen sich nun oft genug Fälle, daß sich Aerzte, Pfleger oder andere Personen absichtlich oder gezwungen der Ansteckung in besonderem Ausmaß exponieren, und zwar nur während einer bestimmten, relativ kurzen Zeitspanne, so daß man die erfolgte Infektion mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit voraussetzen darf. Hier wäre dann die Indikation für eine derartige postinfektionelle Serumprophylaxe gegeben, der man eine bessere Prognose stellen könnte, als der eigentlichen Serotherapie. Bei der letzten Durchsicht der neuesten Publikationen bemerkte ich zu meiner Genugtuung, daß Nicolle und Conseil auf den gleichen Gedanken verfallen sind und denselben praktisch in Tunis an 7 Personen erprobt haben. Nicolle und Conseil benutzten allerdings Rekonvaleszentsera, welche sie den gefährdeten Menschen in Mengen von 20–40 ccm subkutan injizierten; wenn sie auch eine Methode angeben, welche die Gewinnung größerer Serummengen selbst bei anämischen Exanthematicus-Rekonvaleszenten mit kollabierten Venen gestattet, so müßte man tierische Immunsera doch vorziehen, weil sie die Serumprophylaxe von dem Umstande unabhängig machen, ob sich gerade Rekonvaleszenten im geeigneten Stadium (6.—15. Tag nach der Entfieberung) vorfinden, und weil sie die Verwendung ausgewerteter, auf ihre Virulenz geprüfter Sera ermöglichen. Von den 7 Geimpften Nicolles erkrankte kein einziger, und so besteht begründete Hoffnung, daß wir weiteren Fortschritt in der Erforschung des Fleckfiebers nicht mehr mit dem Opfer von Männern wie Cornet, Jochmann, Römer, Schäßler, Ricketts und vor allem nicht mit dem Verluste eines Prowazek bezahlen müssen.

#### Literatur.

(In den Sammelreferaten von da Rocha-Lima und von Zlocisti nicht berücksichtigte neuere Arbeiten, zum Teile nach Originalen, zum Teile nach den Angaben des „Office international d'hygiène publique“ zitiert.)

- Aaser, E., Tidskr. f. d. norske Laegefer. 1917. Kristiana p. 615. — Aldershoff, H., Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1917. p. 1726. — Alessandrini, G., Ann. d'Ig. 1916. p. 92. — Ders., ebenda. 1919. p. 54. — Alfeyewski, N. A., Sovrem. Psikiat. Moskau. 1914. S. 279. — Amenitski, M., Sibirski Vratsch. Gaz. Irkutsk. 1909. p. 531, 541 u. 547. — Anrioud, Epidémie de Corfou 1916. Thèse de Paris. 1917. — Armand-Delille, Bull. de l'Acad. de Méd. de Paris. 1920. 11. — Arnold, V., Wien. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 36. — Arnould, Journ. de Méd. de Bordeaux. 1916. p. 167. — d'Astros u. Rouslacroix, Marseille médical. 1919. — Atanoff, V. A., Karkow Med. Journ. 1916. p. 196. — Babes, V., C. r. Soc. Biol. 1916. p. 857. — Bach, F. W., Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 84. 1920. S. 265. — Bacot, A., Brit. Med. Journ. 1916. p. 167. — Ders., ebenda. 1916. S. 788. — Ders., Brit. Med. Journ. 1917. p. 151. — Ders., The Lancet. 1917. S. 421. — Bacot, W. R., Med. Press. Circ. 1917. p. 205. — Bacot et Lloyd, Brit. Med. Journ. 1918. p. 479. — Dies., Brit. Med. Journ. 1919. p. 704. — Baehr, G., Journ. of infect. Dis. 1917. p. 132. — Baehr, G., et Plotz, H., Med. Record. 1917. p. 300. — Baehr, G., Plotz, H. et Olitsky, P. H., Proc. New York Path. Soc. 1915. p. 53. — Baradas, A., Revista de Med. y Cirurgia practica. 1918. p. 298. — Battaglia, I., et Belamino, Barbara, Ann. des Departamento Nacional de Higiene. 1919. p. 3. — Battarel, E., Bull. Méd. de l'Algérie. 1909. p. 421. — Beard, J., Edinburgh Med. Journ. 1911. p. 410. — Bertraud, G., C. r. Acad. Sciences. 1919. p. 772. — Bertarelli, E., Gazz. Med. Sicil. 1915. p. 97. — Ders., Revista d'Ig. e sanit. pubbl. 1915. p. 241. — Ders., Morgagni. 1917. p. 135. — Beyer, H. G., Milit. Surgeon. 1916. p. 483. — Bijlsma, V. G., Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1918. p. 1967. — Birt, C., Journ. Royal Army Med. Corps. 1912. p. 521. — Bishopp, F. C., et Wood, H. F., Psyche. 1917. p. 187. — Bittorf, München. med. Wochenschr. 1919. p. 1646. — Blagovieschtschenski, F., Vrach. Gaz. 1907. p. 1032. — Blanc, Jacques, Ann. d'Hyg. 1917. p. 5. — Blanchard, R., Paris 1915. — Blanco et Tapia, Bolet. del Inst. nac. de Hig. de Alfonso. XIII. 1919. p. 135. — Blatteis, S. R. et Lederer, M.,

- Long Isl. Med. Journ. 1916. p. 169. — Bordoni-Uffredi, G., Gazz. Med. Lombarda. 1917. p. 121. — Börnstein, P., Zeitschr. f. Infektionskr. Bd. 90. 1920. H. 2. — Borrel, Jonesco-Mihailesti et Nasta, C. r. Soc. Biol. 1919. p. 501. — Boyd, M. F., J. Iowa State med. Soc. 1917. p. 45. — Ders., Ann. I. Publ. Health Concord. 1917. p. 667. — Braun, B. u. Schaeffer, H., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 89. 1919. H. 3. — Brill, N. E., Americ. Journ. Med. Sc. 1911. p. 196. — Ders., Med. Record. 1912. p. 1037. — Ders., Brit. Med. Journ. 1913. p. 388. — Ders., Transact. Intern. Congr. Med. 1913. London 1914. p. 83. — Ders., Calif. State J. M. 1917. p. 29. — Broc, Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. 1909. p. 889. — Ders., Bull. Soc. Méd. de Tunis. 1910. — Brodfeld, E., Med. Klinik. 1919. Nr. 34. — Bruce, Low. R., Bull. offic. Intern. d'Hyg. publ. 1916. p. 1103. — Brumpt, E., Bull. Soc. Path. exot. 1918. p. 249. — Bué, V., Presse méd. 1916. p. 289. — Bulliard, H., Ann. Derm. et Syphil. 1916/17. p. 501. — Burckhardt, Correspondenzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1917. p. 1621. — Buttler, E. F., New York State I. M. 1917. p. 139. — Ceconi, A., Policlinico. 1918. p. 437. — Cellier, Rev. Intern. Méd. Chir. 1917. p. 29. — Cellier, Med. prat. Micastr. 1909. p. 271. — Chaix, Bull. Ac. Méd. 1916. p. 231. — Chandrosse, Thèse de Paris. 1915. — Chavigny, Rev. génér. des Sciences. 1919. p. 308 u. 342. — Ciavaldini, Bull. Acad. Méd. 1915. p. 63. — Clerc, Rev. d'Hyg. de Paris. 1915. p. 780. — Colden, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. p. 267. — Compton, A., Journ. Roy. Arm. Med. Corps. 1920. p. 50. — Corsini, A., Ann. d'Igiene. 1917. p. 364. — Cortezo, V., Siglo Medico. Madrid. 1918. p. 225. — Cowie, D. M., Ref. Handb. Med. Sc. New York. 1917. p. 302. — Cummings, London 1915. British Museum. — Cunningham, Am. Red. Cross. Mag. Washington. 1915. p. 180. — Danielopolu, D., Bull. Inst. Past. 1918. p. 227. — Ders., Presse Méd. 1917. p. 402. — Ders., Ann. de Méd. de Paris. 1917. p. 495. — Ders., Arch. Mal. du Coeur. 1917. p. 571. — Ders., Arch. Mal. du Coeur. 1918. II. p. 1. — Danielopolu, D., et Simici, D., Arch. Mal. du Coeur. 1918. I. p. 1. — Dantrelle, A., Thèse de Paris. 1918. — Darling, G. R., Lancet. 1917. I. p. 589. — Davidoski, J. V., Karkov M. J. 1916. p. 205. — Davy, P. C. T. et Brown, A. S., Brit. Med. Journ. 1915. II. p. 737. — Deszimirowics, Wien. klin. Wochenschr. 1918. p. 839. — Devaux, Bull. de l'Acad. de Méd. 1918. p. 1-8. — Devaux, Paulian, et Tupa, C. r. Soc. médico-chirurg. du front russo-roumain. 1917. Mai. — Doerr, R., Schweiz. med. Wochenschr. 1920. Nr. 30. — Doerr, R. u. Pick, R., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 89. 1920. — l'Epidémie de typh. exanthém. en Pologne. The Lancet. 1918. p. 879. — Epstein, Centralbl. f. Bakt. Bd. 83. 1919. p. 255. — Fairley, Journ. of Hyg. 1919. p. 203. — Fantham, H. B., Proc. Royal. Soc. B. T. 84. p. 505. — Federschmidt, München. med. Wochenschr. 1920. Nr. 19. — Ferrer, P. L., Bol. d. l. Oficina Chilena sanit. inform. de las Republicas Americanas. 1920. No. 1. — Ficaï, G., Ann. d'ig. 1919. No. 3. — Fiessinger, N., Journ. des Praticiens. 1915. p. 286. — Ders., Rev. gén. clin. et théor. 1915. p. 473. — Flury, F., und Hase, A., München. med. Wochenschr. 1920. Nr. 27. — Foulerton, A. G. R., Journ. Royal. Arm. Med. Corps. 1917. p. 224. — French, H., Guy's Hospit. Gaz. London. 1918. p. 69. — Friedberger, E., Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther. Bd. 29. 1920. p. 123. — Fulle, G. B. C., Sperimentale. 1915. p. 523. — Furno, A., Ann. d'Igiene. 1917. p. 141. — Futaki, Ref. Brit. Med. Journ. 1917. p. 491, u. Bull. Inst. Past. 1918. p. 217. — Vergl. auch Lancet. 1917. p. 544. — Gamaleia, N. F., Vestnik Tsarskoselo. 1916. p. 5. — Ref. Journ. of Americ. Med. Assoc. 1917. p. 857. — Gaston, P., Montpellier Médical. 1917. p. 543. — Gérard, F., Thèse de Paris. 1919. — Grinoni, G., Attualità med. Mailand 1916. p. 460 u. Giorn. di medic. milit. Vol. 6. p. 417. — Grubbs, S. B., Pub. Health. Rep. Washington 1916. p. 2918. — G..... G. H. F., Guy's Hosp. Gaz. London 1915. p. 431. — Grysez, V., et Auguste, C., C. r. Soc. Biol. 1920. p. 925. — Grzywo-Dąbrowski, Virch. Arch. 1918. H. 3. — Gunn, J. A., Brit. med. Journ. 1917. p. 579. — Hall, H. C., New York Med. Journ. 1917. p. 1071. — Harrison, L. W., The Lancet. 1917. I. p. 701. — Heitz, J., Arch. Mal. du Coeur. 1918. I. p. 39. — Hetsch, Therapie der Gegenwart. 1917. p. 329. — Hicks, J. R., Ann. Journ. Publ. Health. New York 1917. p. 628. — Hirschfelder u. Moore, Archiv of internal Med. 1919. p. 419. — Hoogenhuijze, C. J. C., Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 82. 1918. Nr. 3/4. — Hübner u. Gliniski, Veröff. a. d. Geb. d. Medizinalverwaltung. Bd. 8. 1918. p. 321. — Hunter, The Lancet. 1918. p. 107. — Ders., Brit. Med. Journ. 1918. p. 198. — Izar, G., Rif. Medica. 1916. p. 253. u. Giorn. die Medic. milit. Vol. 65. p. 241. — Jarisch, A., Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1919. p. 270. — Kaczynski, Der Amtsarzt. 1918. p. 138. — Kersten, H. E., Deutsch. med. Wochenschr., 1920. Nr. 30. — Kirković u. Alexejeff, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 1918. Bd. 22. — Klein, Wien. klin. Wochenschr. 1917. p. 673. — Koehler, O., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 1918. p. 433. — Kostrzewski, J., Przegląd lekarski. 1919. No. 40. — Kramer, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1920. p. 455 u. 888. — Kraus, R., Rev. Medica de Chile,

- Santiago 1919. H. 4. — Ders., *La prensa medica Argentina*. 1919. No. 32. — Kuczyński, *Med. Klinik*. 1920. No. 27—29. — Ders., *Centralbl. f. Path.* Bd. 30. 1919. H. 2. — Ders., *Arch. f. Protistenk.*, Bd. 38. 1918. — Ders., u. Jaffé, R., *Centralbl. f. Path.* Bd. 30. 1919. No. 9. — Kyriazidis, C. D., *La Grèce médicale*. 1920. No. 4. p. 33. — Labbé, H., et Wahl, M., *Paris Médical* 1915—16. p. 456. — Lapin, J., et Senevet, *Bull. Soc. Path. exot.* 1919. p. 592. — Larrieu, J. F., *Paris* 1915. — Lebailly et Poirson, *Ann. Inst. Past. de Tunis*. 1919. T. 11. Fasc. 1. — Ledingham, J. C. G., *The Lancet*. Vol. 198. 1920. p. 1264. — Licen, E., *Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych. Orig.* Bd. 53. 1920. S. 199, und *Riv. di patol. nerv. e ment.* Vol. 25. 1920. p. 1. — Lincecum, A. L., *Buffalo Med. Journ.* 1918—19. Vol. 74. p. 39. — Lochoy, *Rev. Hyg. et Pol. sanit.* 1918. p. 737. — Lopez Vallejo, J., *Bol. dir. de est. biol. Mexico*. 1917. II. p. 92. — Martini, *Deutsch. med. Wochenschr.*, 1919. Nr. 2. — Ders., *Deutsch. med. Wochenschr.* 1919. S. 525. — Mateesco, Thèse de Bucarest. 1917. — Megaw, J. W. D., *Indian Med. Gaz.* 1917. p. 15. — Michaelis, W., *Deutsch. med. Wochenschr.* 1920. Nr. 3. — Milhit, J., *Progr. Méd.* 1915. p. 382. — Milman, M. S., *Russky Wratsch.* 1915. p. 772. — Mitchell, J. A., *Med. J. S. Africa. Johannesburg*. Vol. 12. 1916/17. p. 189. — Möllers u. Wolff, *Deutsch. med. Wochenschr.* 1920. Nr. 18. — Montefusco, A., *Rif. medica*. 1919. No. 37. — Monteleone, C. r. Soc. Biol. 1919. p. 1009. — Monziols, A., et Dubourg, E., C. r. Soc. Biol. 1919. p. 348. — Monziols et Collignon, *Bull. et mém. de la Soc. Méd. des Hôpit.* 1920. p. 462. — Moore, W., *Lab. et Clin. Med. St. Louis* 1917—18. III. p. 261. — Ders., *Journ. Parasit.* 1918. p. 60. — Moszeik, *Med. Klin.* 1920. p. 879. — Müller, G., et Urizio, *La Riforma med.* T. 35. 1919. No. 34. — Muratet, L., *Presse méd.* 1918. p. 70. — Muto, A., *The Lancet*. 1916. p. 835. — Neill, M. H., *Publ. Health Reports*. 1917. p. 1105. — Netter, A., et Blaizot, L., *Bull. Acad. Méd.* 1918. p. 90. — Dies., C. r. Soc. Biol. 1918. p. 265. — Neumann, *Berlin. klin. Wochenschr.* 1919. Nr. 35. — Nicolle, Ch., *Bull. de l'Inst. Past.* 1920. No. 1 u. 2. — Nicolle, Ch., et Conseil, E., C. r. Soc. Biol. 1920. p. 991. — Dies., *ebenda*. p. 990. — Nicolle et Lebailly, C. r. Acad. Sc., 1919. p. 800. — Nuttall, G. H. J., *Parasitology*. 1918. Vol. 10. No. 4. — Ders., *Parasitology*. 1919. p. 201. — Odriozola, *Cronica Med. Lima*. 1917. p. 131. — Odriozola, E., *Ann. de la Facultad de Med.* 1919. No. 9. — Olitsky, P. K., *Journ. of Immunology*. 1917. II. p. 363. — Ders., *Proc. New York Path. Soc.* 1915. p. 48. — Olitsky, P. Q., Deuzer, B. S., et Husk, C. E., *Med. Rec.* 1917. p. 300. — Orticoni, A., *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp.* 1917. p. 827, und *Arch. Méd. Pharm. milit.* 1917. p. 801. — Ders., *Bull. Soc. Path. exot.* 1920. p. 108. — Otto, R. u. Papamarku, P., *Centralbl. f. Bakt.* Bd. 84. 1920. H. 1. S. 12. — Dies., *Deutsch. med. Wochenschr.* 1920. Nr. 22. — Ottolenghi, D., *Igiene mod. Genova*. 1916. p. 289. — di Pace J., *Folia med. Neapel.* 1917. III. — Ders., *Ann. d'Ig.* 1918. p. 130. — Parlani J. Kinloch, *Brit. Med. Journ.* 1916. p. 789. — Patella, G., *Ann. di Med. nav.* 1916. II. p. 110. — Paz, F., *Gaceta méd. de México*. Aug. 1919. — Peacock, A. D., *Journ. Royal Arm. Med. Corps*. 1916. p. 31. — Paulian, D., *Presse méd.* 1919. No. 54. — Petrovic, *Rev. d'Hyg.* 1916. p. 849, und *Bull. Ac. méd.* 1916. p. 206. — Pierce, W., *Proc. Class. Study Entomol. dis. Washington* 1918. p. 50. — Plotz, H., *New York Med. Journ.* 1917. p. 571. — Ders., *Journ. of the Americ. Med. Assoc.* 1919. p. 324. — Plotz, H., Olitsky, P. K., u. Baehr, G., *Med. Rec.* 1917. p. 301. — Popoff-Tscherkasky, Dora, *Centralbl. f. Bakt.* 1917. p. 29. — Potel, R., *Arch. Méd. Phar. navales*, T. 103 et 104. 1917. — Pozzato, P., *Riv. d'Ig. e san. pubbl.* 1917. p. 52 u. 73. — Prausnitz, C., *Centralbl. f. Bakt. Orig.* Bd. 84. p. 103. — Prophylaxie du typh. exanth. dans les camps de concentration des prisonniers de guerre en Italie. (*Rundsch. d. ital. Kriegsmin.*) *Il Policlinico*. 1919. p. 726. — Putter und van der Reis, *Centralbl. f. Bakt. Orig.* Bd. 83. 1919. — Raggazi, C., *Atti d. R. Acc. d. fisiocrit. in Siena*. 1916. p. 27. — Rapmund, *Zeitschr. f. Medizinalbeamte*. 1919. S. 75. — Ribeyro, *Cronica medica*. 1919. No. 671. — Robertson, M., *Proc. Roy. Soc. Med.* Vol. 10. 1916/17. p. 95. — Ders., *Journ. of Path. and Bact.* 1917. p. 173. — Rudelle, J. C., Thèse de Paris. 1918. — Russ, V. K., u. Kirschner, L. (erscheint demnächst). — Sacquépée, et de Lavergne, *Soc. méd. des Hôpit.* Febr. 1919. — Salazar, M. M., Madrid 1918. — Saloma, J. J., *Med. Mex.* T. 10. 1917. — Sampietro, *Ann. d'Igiene*. 1919. p. 458. — Sandwith, F. M., *Clin. Journ. London*. Vol. 14. 1916. p. 45. — Sanders, *Tijdschr. voor soc. Hyg.* 1919. p. 160. — Savatieff, A. J., et Lokoff, D. D., *Russky Wratsch.* 1916. p. 1141. Ref. in *Journ. Americ. Med. Assoc.* Vol. 58. p. 1012. — Schaeffer, H., *Centralbl. f. Bakt.* Bd. 83. 1919. S. 430. — Schiemann, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, Bd. 87. 1918. — Schiff, F., *Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther.* Bd. 29. 1920. S. 11. — Schweinburg, E., *Wien. klin. Wochenschr.* 1920. Nr. 5. — Sedlicka, Vaclav, *Šborník lékařský*. T. 21. 1920. p. 217. Ref. *Kongreß-Centralbl. f. d. ges. innere Med.* Bd. 13. 1920. — Signorelli, *Riforma medica*. 1919. No. 27. — Simon, A., *Bull. des Sc.*



Pharm. Paris 1916. T. 23. p. 116. — Skramlik, v., Centralbl. f. Bakt. 1919. S. 386. — Smith, J. F., Journ. Roy. Army Med. Corps. 1918. p. 519, und Lancet. 1918, II. p. 106. — Souèges, R., et Rondeau du Noyer, Bull. Sc. Pharmakol. Paris 1917. 187. 224. 303. — Stark, J., Brit. Med. Journ. 1918. I. p. 175. — Stefanski, Russky Wratsch. 1916. T. 15. p. 179. — Stephanopoulo, G., Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôpit. 1918. p. 323. — Taliercio, G., Ann. di medic. navale e coloniale. Vol. 2. 1918. H. 5 u. 6. — Techoueyres, Rev. d'Hyg. et de Pol. sanit. 1920. p. 147. — Timsit, Caducée. Paris 1916. p. 90. — Ders., Thèse Alger. 1915. No. 9. — Trineas, G., Igiene mod. Genova. 1916. 335. 362. — Tackoura, G., Sarpikus npos Oeonvai. T. 20. 1915. p. 182. — Urizio, L., La Riforma medica. 1919. No. 34. — Vaglio, R., Pathologica. 1919. p. 232. — Vallardi, 1919. p. 379. — Vialatte, Collignon et Bénard, Bull. d. l. Soc. Méd. des Hôpit. T. 43. 1919. H. 18. — Vincent, H., et Muratet, L., Préc. de Méd. et Chir. de guerre. Paris (Masson) 1917. — Violle, C. r. d. l. Soc. Biol. 1920. No. 13. — Vitoux, Presse méd. 1919. No. 49. — Wanhill, Journ. Royal. Army Med. Corps. 1919. p. 178. — Weil, Wien. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 3. — Ders., Deutsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 3. — Ders., u. Felix, A., Wien. klin. Wochenschr. 1920, p. 423. — Dies., ebenda. 1920. p. 794. — Weissenbach, Presse médicale. 1919. No. 23. — Wilson, W. J., The Lancet. 1917. I. p. 822. — Wolbach, B., u. Todd, Ann. Inst. Past. 1920. No. 3. — Wolff, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 1919. H. 3. — Ders., München. med. Wochenschr. 1920. No. 27. — Yakimoff, W. L., Bull. de la Soc. Pathol. exot. 1917. p. 94. — Yavorovski, V., Prakt. Vratsch. VIII. 453. 470. — Zielinski, K., Berlin. klin. Wochenschr. 1918. p. 233. — Zondek, S. G., Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 40.

### Diskussion.

E. Friedberger: Es ist mir eine besondere Genugtuung, daß in der wichtigen Frage der Filtrierbarkeit des Fleckfiebertvirus zwischen Herrn Doerr und mir volle Uebereinstimmung besteht.

In meiner Arbeit in der Berliner klinischen Wochenschrift 1916 Nr. 32 habe ich zum ersten Male das Dogma widerlegt, daß das Fleckfieber durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen werde, und bewiesen, daß die Stützen für die Auffassung sämtlich falsch sind. Das wurde lange nicht anerkannt.

Rocha-Lima schrieb z. B. in seinem Sammelreferat im Handbuch von Pro-wazek und auch noch später, daß das Virus filtrierbar sei, während er in seiner neuesten zusammenfassenden Uebersicht in Lubarsch-Ostertags Ergebnissen die Nichtfiltrierbarkeit endlich anerkennt, was ja auch nunmehr Nicolle zu tun scheint.

Ich freue mich also, daß man sich in diesem Punkte meiner Ansicht jetzt allgemein anschließt.

Ebenso freue ich mich, daß bezüglich der Beurteilung des Meerschweinchenfleckfiebers zwischen Herrn Doerr und mir doch weitgehende Uebereinstimmung besteht.

Denn wenn Herr Doerr jetzt sagt, daß das Fieber allein nicht als Kriterium der Flecktyphusinfektion genügt, sondern daß 2. auch die Immunität, 3. der histologische Befund im Gehirn, 4. der gesamte Obduktionsbefund und 5. der Nachweis der X19-Agglutinine beim Kaninchen durch Verimpfung von Meerschweinchengehirn (Weil-Felix) notwendig ist, so zeigt das ja zur Genüge, wie wenig Verlaß auf das Fieber allein ist, und ich habe mich auch nur dagegen gewandt, daß aus der Fieberreaktion und nun gar aus dem Ausbleiben des Fiebers so weitgehende Schlußfolgerungen gezogen werden, wie das von seiten Rocha-Limas geschehen ist.

Was nun die Uebertragung des Fleckfiebers auf Meerschweinchen anlangt, so ist sie mir jedenfalls mit Fleckfieberblut nicht in eindeutiger Weise gelungen.

Wir haben direkt am Krankenbett mit dem nativen Blut diese Versuche angestellt.

Nachdem aber Herr Doerr in seinem Referat darauf hingewiesen hat, daß mit defibriniertem Blut die Infektion leichter angeht, möchte ich die Divergenzen vielleicht zum Teil auf dieses Moment zurückführen.

Passageversuche vom Meerschweinchen zum Meerschweinchen sind von uns nicht ausgeführt worden.

Ich habe aber die Möglichkeit, daß durch solche Passagen ein Virus virulenter gemacht wird, und dann regelmäßig Fieber erzeugt, auf Grund der Versuche von Landsteiner sowie Doerr in meiner Arbeit anerkannt und nur immer wieder die häufige Resistenz des Meerschweinchens gegenüber dem Fleckfieberblut betont, und ich habe darauf hingewiesen, daß es nicht angebracht ist, „aus den Fieberversuchen am Meerschweinchen nach Blut- und Lausimpfungen und mangels dieses Fiebers gar aus der vermeintlichen Immunität bei einer erneuten Injektion angesichts der von den



betreffenden Experimentatoren selbst behaupteten häufigen Resistenz des Meerschweinchens Schlüsse zu ziehen über das Verhalten des Fleckfiebersvirus im Organismus des Menschen und in der Laus, mit der Bestimmtheit und der mangelnden Kritik, wie es namentlich da Rocha-Lima in seinen experimentellen Arbeiten tut<sup>4</sup>.

Ich komme nunmehr an die Besprechung meiner eigenen, in Gemeinschaft mit den Herren Schröder und von Seiffert ausgeführten Versuche über das Verhalten des Bazillus X 19 im Reagenzglas und Tierkörper (siehe S. 168 Friedberger, Schröder und Seiffert).

E. Wolff-Berlin (a. G.): Die Angaben von Weil und Felix über die Erzielung der Proteus-Agglutination beim Kaninchen durch Injektion von Fleckfieber-virushaltigem Meerschweinergehirn konnten vorläufig erst an kleinem Material im Kuczynskischen Laboratorium nachgeprüft und im allgemeinen — allerdings mit quantitativen Abweichungen — bestätigt werden. Die Erzielung der Weil-Felixschen Agglutination beim Kaninchen durch Injektion von Fleckfieberkultur-Material wurde erst in einem Falle versucht und führte zum Agglutinationstiter 1:160. — In zwei Fällen, in denen vorher Fleckfieberkultur-Material injiziert war, blieb bei späterer Injektion von virushaltigem Gehirn der Titeranstieg aus.

E. Jacobsthal (Hamburg): Herr Friedberger hat eine wichtige Kontrolle vergessen: er hätte eine gleich große Anzahl von Tieren mit anderen Proteus-Stämmen, vor allem aber mit Paratyphus A und B impfen und ihre Gehirne gleich genau untersuchen sollen. Es wäre doch merkwürdig, wenn sich auf derartige Infektionen nicht reaktive Herde im Gehirn entwickeln sollten. Die projizierten Bilder lassen den typischen Aufbau der von Fraenkel-Ceelen beschriebenen Hirnherde nicht deutlich erkennen.

R. Pfeiffer äußert sich gegen Friedberger und die ätiologische Bedeutung des X 19-Bazillus für den Exanthematicus.

Bei der Frage der Fleckfieberätiologie dürfe niemals die absolut grundlegende Rolle der Kleiderläuse für die Uebertragung der Seuche außer acht gelassen werden. Bei Fleckfieberläusen ist nun der Bac. Weil-Felix höchstens ganz ausnahmsweise gefunden worden, während schon ein Biß derartiger Läuse die Infektion des Menschen herbeiführt, und damit ist eo ipso die Auffassung der ätiologischen Bedeutung der X 19-Proteus-Bazillen ad absurdum geführt zu betrachten.

Kolle: Ich kann mich den Ansichten, die Herr Pfeiffer geäußert hat, in jeder Beziehung anschließen und möchte im besonderen noch auf einige Punkte hinweisen, aus denen hervorgeht, daß der Bazillus Weil-Felix X 19 nicht der Erreger des Fleckfiebers sein kann.

Der Weil-Felixsche Bazillus ist in Läusen außerordentlich selten gefunden worden, und auch dann nicht in großen Mengen. Ein Fleckfieber-Erreger muß aber in infektiösen Läusen in größten Mengen vorhanden sein. Ein Bakterium, das als Fleckfieber-Erreger angesprochen werden kann, muß auch im Blut oder in den Roseolen in bestimmten Stadien der Erkrankung zahlreich nachzuweisen sein. Sonst wäre die Infektion der Läuse durch Saugen weniger Blutstropfen nicht zu erklären. Bei Typhus und Paratyphus sind die Prozentzahlen der positiven Bazillenbefunde im Blut und in den Roseolen, auch bei den Leichen in der Milz, aber sehr hohe. Bei Benutzung geeigneter Methoden dürften sie auf 80—90 Proz. und vielleicht mehr aller Fälle kommen.

Im Gegensatz dazu ist der Proteus ein Vertreter weitverbreiteter Fäulnisbakterien, aber in einem ganz verschwindenden Prozentsatz der Fleckfieberfälle aufgefunden worden.

Von den wenigen, fast isoliert dastehenden Autoren, wie z. B. Friedberger, die den Proteus-Bazillus X 19 als Erreger des Fleckfiebers hinstellen wollen, wird die Beweisführung eigentlich nur auf die Agglutination des Bazillus X 19 durch Fleckfieberblut aufgebaut. Seit der Feststellung der Paragglutination und der interessanten Arbeiten über dieses Phänomen, dürften die Agglutinationsphänomene für diese Beweisführung durchaus auszuschalten sein. Die ganze Fragestellung und Beweisführung fällt also in sich zusammen und zeigt, wie bedenklich es ist, auf nicht bewiesene Hypothesen ätiologische Probleme aufbauen zu wollen.

Auch die Meerschweinchenversuche liefern den Beweis, daß der Proteus-Keim X 19 nicht der Erreger des Fleckfiebers sein kann. Mit Proteus-freiem Fleckfieber-virus, das von Menschen oder Meerschweinchen stammt, ist es gelungen, bei Meer-

schweinchen diese charakteristischen Befunde in Passagen fortzuzüchten, ohne daß der Proteus-Keim hier in Frage kommt.

Obgleich der Erreger des Fleckfiebers noch nicht sicher bekannt ist, steht doch das eine fest und darf als einwandfrei bewiesen betrachtet werden, daß der Bazillus X 19 nicht — wie schon Pfeiffer betont hat — der Erreger des Fleckfiebers ist.

Friedberger (Schlußwort): Auf die Rolle der Läuse und der Rickettsien kann ich gegenüber den mir gemachten Einwendungen bei der knappen Zeit nicht näher eingehen. Ich bemerke nur, daß wir über die Natur der Rickettsien ja noch gar nichts wissen, nicht einmal sicher ob es Mikroorganismen sind, daß sie aber schließlich sich morphologisch weniger von der „O“-Form des *Bacillus Weil-Felix* unterscheiden, als diese von der „H“-Form, und daß zwischen dem ausschwärmenden Wachstum der „H“-Form und dem kümmerlichen der „O“-Form der Unterschied nicht viel geringer wäre als zwischen der „O“-Form und einer überhaupt auf künstlichen Nährböden nicht ohne weiteres wachsenden Modifikation.

Wenn der *Bacillus Weil-Felix* so relativ selten nur aus dem Blut gezüchtet ist, so haben wir eben hierfür noch keine optimale Methode. Auch beim Typhus ist das ja bis zur Entdeckung der Gallenanreicherung nur ausnahmsweise gelungen.

Sodann hat man bei den Züchtungen im Anfang immer nur auf die schwärmende „H“-Form geachtet, während doch offenbar zunächst die „O“-Form in der Kultur zu erwarten ist.

Was die Einwendungen des Herrn Kolle über die Natur der Knötchen anlangt, so verweise ich nochmals auf die demonstrierten Bilder, bei denen wenigstens in den Präparaten, in denen die Bazillen fehlten, ein Unterschied gegenüber den mit Fleckfieberblut infizierten Tieren, abgesehen von Zahl und Größe der Knötchen bisher nicht nachweisbar ist.

Irgendeine sekundäre Meerschweincheninfektion möchte ich nicht verantwortlich machen, da sie bei unseren Beständen damals jedenfalls nicht nachweisbar war.

Herr Jakobsthal hat offenbar meine Beweisführung mißverstanden. Es handelte sich nicht darum, ob nicht auch andere Bakterien solche Knötchen hervorrufen, sondern darum, daß eben Impfung mit Reinkultur des Bazillus X 19 etwas bedingt, was als charakteristisch für einen besonderen invisiblen, nicht bakteriellen Fleckfiebererreger angesehen wurde.

Mit Diphtherie- und Tuberkelbazillen ist es uns, wie schon erwähnt, nicht gelungen. Ich möchte es aber durchaus nicht für unmöglich halten, daß auch andere Bakterien, die für das Meerschweinchen eine gewisse Pathogenität haben, zu entsprechenden Veränderungen führen.

Doerr betont im Schlußwort, er hätte keine Ursache gehabt, auf die Frage einzugehen, ob die X-Stämme die Erreger des Fleckfiebers seien. Denn es genüge, daß man diese Bakterien weder im infizierten Meerschweinchen noch in der infizierten Laus nachgewiesen habe; die positiven Kulturversuche aus Fleckfieberblut, Harn etc. sind gegenüber den negativen an Zahl geradezu verschwindend und ihre Methodik nichts weniger als einwandfrei.

## 1. Vortrag. C. Titze (Berlin):

### Beitrag zur Bedeutung der Fleisch- und Milchnahrung als Ursache tuberkulöser Infektionen.

Die bisherigen zahlreichen Versuche über die Identitätsfrage der sogenannten Tuberkelbazillentypen sprechen gegen die Identität. Die Umwandlungsergebnisse der Menschenbazillen in Rinderbazillen (Dammann und Müssemeier, Eber) und von Rinderbazillen in Geflügelbazillen (O. Bang) konnten noch nicht bestätigt werden. Tuberkulin aus Menschen- und Rinderbazillen sind in ihrer Wirkung, soweit bekannt, allerdings gleich; anders verhält sich dagegen Tuberkulin aus Geflügelbazillen. Letzteres zeigt Geflügelbazilleninfektionen gut an und nach O. Bang auch Paratuberkulose des Rindes, während die Reaktion bei Säugetiertuberkulose sehr unsicher ist. In der Identitätsfrage der

Tuberkelbazillentypen steht ein endgültiges Urteil keineswegs fest. Sicher ist aber, daß auch die Rinderbazillen für den Menschen pathogen sind, und dem hat die praktische Fleischschau stets Rechnung getragen.

Durch die Versuche in der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamtes ist es gelungen, für das Rind die Lymphknotenbezirke nach ihrem Verhalten bei örtlichen tuberkulösen Erkrankungen in genügender Weise abzugrenzen und somit bei der Beurteilung des Fleisches tuberkulöser Rinder große Werte erhalten zu können.

Im Gegensatz zum Rinde war es uns bei Schweinen durch intramuskuläre Injektionen selbst von nur 0,02 mg Rinderbazillen von mäßiger Virulenz in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung nicht möglich, örtliche Tuberkulose zu erzeugen.

Bei der Schlachtung 4–6 Wochen nach der Infektion war immer eine ausgesprochene Generalisation eingetreten. Das Lymphgefäßsystem des Schweines scheint demnach weniger geschlossen zu sein als das des Rindes, oder aber die Lymphknoten des Schweines stellen Tuberkelbazillen gegenüber weniger zuverlässige Filter dar. Die Versuche an Schweinen sind wertvoll, um nach örtlichen Infektionen die Ausbreitungswege der Tuberkulose zu verfolgen. Für die Beantwortung vieler noch offener Tuberkulosefragen beim Menschen scheint das Schwein ein sehr geeignetes Versuchstier zu sein.

Saß der tuberkulöse Herd beim Schwein in der Muskulatur des Vorderschenkels vom Carpus aufwärts, so zeigten sich zunächst die Brusteingangs- und die Buglymphknoten der entsprechenden Seite tuberkulös. Dann sind die Tuberkelbazillen weiter in die Blutbahn gelangt und haben vor allem die Lungen und in geringem Grade die Milz infiziert. Mäßig befallen waren die bronchialen Lymphknoten, die wahrscheinlich erst von den Lungen aus ergriffen worden sind.

Am Hinterschenkel, etwa von der Mitte der Tibia aufwärts, waren die Tuberkelbazillen auf dem Lymphwege nach den Scham-, den Lenden- und den Darmbeinlymphknoten der entsprechenden Seite transportiert worden. Die Kniefaltenlymphknoten waren nur dann tuberkulös, wenn der Krankheitsherd in ihrer Nachbarschaft saß. Die Kniekehlymphknoten waren nicht befallen, ihr Wurzelgebiet muß also distal von den lokal infizierten Stellen liegen. Nach dem Passieren der erstgenannten, immer tuberkulösen Lymphknoten geschieht die Weiterverbreitung der Tuberkulose vermittels der Blutbahn nach den Lungen, weniger nach Milz und Leber und selten nach den Nieren. Die Lungenlymphknoten waren stets geringer verändert als die Lungen. Die Gekröslymphknoten zeigten sich bisweilen tuberkulös, sie erkrankten also nicht allein vom Darm, sondern auch wohl von der Milz, der Leber und den serösen Häuten aus.

In der Muskulatur der Brustwandungen wurden vom 3. bis 10. Interkostalraum in verschiedenen Höhen tuberkulöse Herde gesetzt. Es zeigte sich, daß die orale und kaudale Lymphscheide der Brustwandungen beim Schweine wie beim Rinde etwa im 8. Interkostalraume liegt. Oral kommen die Bug-, die Brusteingangs- und unteren Halslymphknoten in Betracht, kaudal die Kniefalten- und die dorsalen mediastinalen Lymphknoten. Waren diese Lymphknoten ergriffen, dann setzte die hämatogene Generalisation ein, die sich am stärksten in den Lungen und in geringerem Grade in der Milz zeigte. Hinsichtlich der Verteilung der tuberkulösen Herde über die Lungen, also hinsichtlich ihrer Lokalisation in den verschiedenen Lungenteilen ließ sich eine Regel nicht ableiten.

Bezüglich der Verbreitungswege der Tuberkulose haben unsere Versuche an Schweinen in Uebereinstimmung mit den Versuchen Oehlbeckers an Meerschweinchen und Kaninchen gelehrt, daß den Lymphknoten im Gegensatz zu der Annahme von Weleminsky eine rein örtliche Bedeutung zukommt, sofern es sich um die Infektionswege handelt. Sind die Lymphknoten von ihrem Wurzelgebiet aus infiziert worden, so schreitet die Tuberkulose nach Ueberwindung des örtlichen Lymphknotenwalles, der aus mehreren hintereinander liegenden Lymphknoten bestehen kann, fort. Die Lymphknoten werden in der Hauptsache von ihrem Wurzelgebiete bzw. ihren Organen aus infiziert, so daß eine Abgrenzung der Wurzelgebiete der wichtigeren Fleischlymphknoten der Schlachttiere den gesundheitlichen Forderungen der Fleischbeschau gerecht wird. Experimentelle Unterlagen für die Annahme, daß Organe von ihren Lymphknoten aus direkt infiziert werden konnten, liegen bisher nicht vor. Wir haben immer wieder gesehen, daß das Weiterschreiten der Infektion von dem Lymphknotenwall auf dem Wege der hämatogenen Generalisation erfolgte.

· In höherem Grade als Fleisch stellen Milch und Milchprodukte eine zu beachtende Infektionsquelle für die Tuberkulose des Menschen dar.

Wedemann hat in der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamtes die Frage experimentell geprüft, ob Tuberkelbazillen in Sauermilch, Quark und Käse abgetötet werden, und gefunden, daß weder die Säuerung der Milch noch die bei der Käsebereitung übliche, bis 3 Std. lange Erwärmung der geronnenen Milchmasse auf 40–45° C zur Abtötung von Tuberkelbazillen ausreicht. Mit der Zeit gehen die Tuberkelbazillen im Käse zugrunde, nach den Versuchen von Kankaapaa innerhalb 50 bis 200 Tagen, und zwar anscheinend in kleinerem Käse schneller als in größerem.

Der Kampf gegen Infektionen mit Rinderbazillen ist erst beendetigt mit der Ausrottung der Rindertuberkulose. Eine solche ist aber nur in einem reichen Lande unter Aufwendung von sehr großen Geldmitteln, von Tatkraft und gründlichem hygienischen Verständnis auf diesem Gebiete möglich. Vor allem müssen die Landwirte an der Ausrottung der Rindertuberkulose auch wirtschaftlich stark interessiert sein. Den Endkampf gegen die Rindertuberkulose wird man nur unter ausgiebiger Verwendung von Tuberkulin erfolgreich bestehen, eine Eindämmung ist aber schon, wie die Erfahrung gelehrt hat, mit dem Ostertagschen Tuberkulosestillungsverfahren möglich.

---

## 2. Vortrag. Schloßberger u. Pfannenstiel (Frankfurt a. M.):

### Ueber die Differenzierung säurefester Bakterien (mit Demonstrationen).

(Erschien in Nr. 44, Jahrg. 1920 der Deutschen medizinischen Wochenschrift.)

8. September 1920 nachmittags. Vorsitzender: W. Kolle.

3. Vortrag. Ludwig Lange (Dahlem):

**Ueber Tuberkuloseimmunisierungsversuche.**

(Verfahren nach Zeuner-Broll und nach Loeffler.)

Auf der letzten Tagung unserer Vereinigung in Berlin 1913 habe ich für den inzwischen auf dem Felde der Ehre gefallenen Kollegen Stabsarzt Dr. Lindemann über Rinderimmunisierungsversuche nach dem (etwas modifizierten) Verfahren von Zeuner-Broll berichtet<sup>1)</sup>, die einen derartig günstigen Ausfall darboten, daß es berechtigt schien, an die Methode große Hoffnungen zu knüpfen.

Die auf Anregung und unter Leitung von Herrn Geh. Rat Neufeld begonnenen Versuche waren damals noch nicht völlig abgeschlossen. Nach dem Ausscheiden des Herrn L. aus dem Reichsgesundheitsamt habe ich diese Versuchsreihe zu Ende geführt und das Verfahren an weiteren 6 Rindern mit 2 Kontrollrindern einer erneuten Prüfung unterworfen.

Der Raumersparnis halber muß bezüglich der Einzelheiten der Lindemannschen Versuche auf die angegebene Literaturstelle verwiesen werden; auch über die neuen Versuche kann nur in stark zusammengedrängter Form berichtet werden.

Die Weiterverfolgung der Lindemannschen Versuchstiere ergab nun:

Bei Kalb 1 (9 Monate nach der Nachimpfung getötet) wurden durch Meerschweinchenverimpfung in den etwas vergrößerten, aber nicht verkästen Achseldrüsen und in den makroskopisch nicht krankhaft veränderten Bronchialdrüsen virulente Tb. nachgewiesen, während die mit Hals- und Kniekehldrüsen geimpften Meerschweinchen frei von Tbk. blieben.

Die 2 mit der tuberkuloseverdächtigen birsekorngroßen Leberherd von Kalb 2 geimpften Meerschweinchen ergaben bei der Tötung nach 8 Monaten negativen Befund.

Kalb 3, ein Bulle, wurde Mitte Dezember 1913 (17 Monate nach der iv. Nachimpfung mit 2,5 mg Rindertb. P 8) kastriert, da er zu ungeberdig geworden war. Je 4 mit Hoden u. r. Kniefaltendrüse sk. geimpfte Meerschweinchen blieben bis zu ihrer Tötung nach 6–8 Monaten gesund.

Das Kalb war ab April 1913 einer hustenden tuberkulösen Kuh gegenübergestellt worden.

Bei der Schlachtung am 15. Mai 1914 (22 Monate nach der Nachimpfung und 1 Jahr, seitdem es der „natürlichen“ Infektion ausgesetzt worden war) fanden sich im r. Lungenhinterlappen ein über kirsch kerngroßer und mehrere erbsengroße Herde, ferner in der langen hinteren Mediastinaldrüse einzelne kleine verkäste und in der mittleren Mediastinaldrüse einzelne nicht verkäste erbsengroße Herde vor. Ferner saß auf der Milzkapsel ein linsengroßes Knötchen neben verstreuten leicht rötlichen lockeren Granulationen. Auch waren die mittleren und oberen Halsdrüsen, ebenso wie die Bugdrüse der r. Seite sämtlich etwas größer als die entsprechenden Drüsen links.

Durch Meerschweinchenverimpfung aller erwähnten Veränderungen wurden im kirsch kerngroßen Lungenherd und in der langen hinteren und der mittleren Bronchialdrüse virulente Tb. festgestellt, während alle übrigen Meerschweinchen sich bei der Tötung am 4. und 6. Aug. 1918 als gesund erwiesen. (Die Tötung schon nach 3 Monaten geschah infolge des Kriegsbeginnes. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei längerer Beobachtungsdauer auch noch einige dieser Tiere als tuberkulös befunden worden wären.)

Bei Kalb 4 ergab eine leicht vergrößerte, aber nicht verkäste Bronchialdrüse und eine makroskopisch unveränderte Mediastinaldrüse bei Meerschweinchenverimpfung einwandfreie Tuberkulose. Die beiden mit der Mediastinaldrüse geimpften Tiere gingen schon nach 2 Monaten daran ein, die beiden Bronchialdrüsentiere erwiesen sich bei der Tötung nach 5 Monaten als tuberkulös.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. I. Ref. Bd. 57, Beiheft. S. 296.

Die mit Pleuraauflagerungen von Kalb 5 geimpften Meerschweinchen waren bei der Tötung nach 5½ Monaten frei von Tuberkulose. Nach den erwähnten Verimpfungsergebnissen bei Kalb 2, 3 und 4 besteht kein Zweifel, daß an der Impfstelle und in der Bugdrüse dieses Tieres lebende Tb. durch Meerschweinchenversuch nachzuweisen gewesen wären.

Die Weiterverfolgung der Lindemannschen 5 Rinderbefunde hat also nur für Kalb 2 das Freisein von virulenten Tb. ergeben. Bei den Kälbern 1, 3 und 4 wurden in schwach tub.-verdächtigen, teilweise auch in nur makroskopisch völlig normalen Organen (Drüsen) virulente Tb. nachgewiesen. Diese Befunde stellen eine volle Bestätigung der von Neufeld in den damaligen Diskussionsbemerkungen<sup>1)</sup> angesprochenen Vermutung, es möchten auch in anscheinend gesunden Organen immunisierter und nachinfizierter Rinder durch den Meerschweinchenversuch virulente Tb. nachzuweisen sein, dar. Die Möglichkeit, daß die Lindemannschen Kälber bei längerer Beobachtung doch noch tuberkulös geworden wären, ist für 4 von den 5 Rindern unbedingt zuzugeben. Immerhin war ein hoher Grad von Resistenz bei den Tieren erreicht worden<sup>2)</sup>.

(Von den beiden Anfang April 1913 noch lebenden Ziegen ging die nach 2 Monaten nachgeimpfte Ziege 2 nach 11½ Monaten unter hochgradiger Abmagerung ein. Von verdächtigen Herden fand sich nur in der Milz ein kleinlinsengroßes Knötchen, dessen Verimpfung beim Meerschweinchen Tuberkulose erzeugte. Die nach 1 Monat nachgeimpfte Ziege 1 verendete erst nach weiteren 22 Monaten. Befund: Disseminierte chronische Lungentuberkulose mit 6 kirschgroßen Kavernen und vielen verkalkten größeren und kleineren Knötchen.)

Bei der neuen Versuchsreihe wurden nach dem Vorgange Lindemanns die Rinder wiederum mit je 20,0 ccm einer 2-proz. Aufschwemmung von Tb. in Oelseifenlösung 1:200 iv. vorbehandelt. Während L. eine Mischung der 2 hochvirulenten Stämme „Sput. Kuh“ und „P 8“ und des schwachvirulenten, aus menschlichem Auswurf gewonnenen bovinen Stammes „St.“ etwa zu gleichen Teilen verwendet hatte, nahm ich für die 3 Rinder A—C eine Oelseifen-Tb.-Emulsion des schwachvirulenten Rtb.-Stammes „Lup. 1“, für Rd. D—F eine solche des erwähnten Stammes „St.“. Nach 7-tägigem Schütteln bei 37° erfolgte die Abtötung (¾ Std. bei 70—80° C)<sup>3)</sup>; darauf wurde wieder 1 Tag bei 37° geschüttelt. Wegen länger dauernder Betriebsstörung des Motors mußten die Emulsionen 23 Tage bei 37° stehen bleiben, worauf sie nochmals 3 Tage bei 37° geschüttelt wurden.

Ueber Ausführung und Verlauf der Versuche gibt die folgende Tab. 1 Aufschluß.

Sämtliche Rinder hatten 13—41 Tage vor der Vorbehandlung mit 0,5 Tuberkulin eine negative Reaktion gegeben.

Auf die Einspritzung der Seifen-Tb.-Aufschwemmung hin trat bei allen 6 Immunisierungsrindern noch am gleichen Tage ein Temperaturanstieg auf 40,2—41,2° ein; am nächsten Tage war bei allen Rindern wieder normale Temperatur vorhanden. Während der 4 Monate bis zur Nachimpfung (Infektion) blieben Rd. A, C und F

1) a. a. O. S. 297.

2) Eine Kontrollimpfung im strengen Sinne war von Lindemann nicht ausgeführt worden. Die Virulenz des benutzten Stammes „P 8“ war aus den Befunden zu entnehmen, die an 3 am gleichen Tage mit der gleichen Emulsion infizierten Ziegen erhoben wurden, ferner konnte das mit einer anderen Kultur des gleichen Stammes geimpfte und der Infektion erlegene Rd. 6, das — erfolglos — genau nach den Vorschriften Brolls vorbehandelt worden war, als Kontrolle herangezogen werden.

3) Die erfolgte Abtötung wurde durch je 3 negativ verlaufene Meerschweinchenverimpfungen bestätigt.

Rind		Vorbehandlung		Infektion (bei A—F 125 Tage nach der Vorbehandlung)		
Bezeichnung (Nr.)	Geschlecht u. Gew. in kg (am 8./8. 13)	Datum	wie	Datum	Gew. kg	Erhält v. 18 Tage alter Bouillon- kultur „P 8“
A (22)	m. 112	8. 8. 1913	20,0 cc einer 2-proz. Aufschwemmung von Tb. „Lup 1“ in Oelseifenlösung 1 : 200 iv. (= 0,4 g Tb.)	12./12. 1913	157	0,0025 g iv.
B (26)	m. 112	„	dgl.	„	163	0,005 g iv.
C (30)	w. 120	„	dgl.	„	153	0,05 g sk.
D (32)	m. 131	„	20,0 cc einer 2-proz. Aufschwemmung von Tb. „S 4“ in Oelseifenlösung 1 : 200 i. v. (= 0,4 g Tb.)	„	182	0,002,5 g iv.
E (33)	m. 91	„	dgl.	„	115	0,005 g iv.
F (35)	m. 124	„	dgl.	„	163	0,05 g sk.
G (44)	w. —	(Kontrolle zu A, B, D, E)		„	152	0,002 g iv.
H (58)	w. —	(Kontrolle zu C u. F)		„	155	0,03 g sk.

Verlauf nach der Infektion (Tage von der Infektion an gerechnet)	Tod				Befund
	Da- tum	Tage nach d. Infek- tion	Spontan oder getötet	Ge- wicht kg	
Tier fiebert am 7. Tag, dann 7 Tage normal; ab 15.—25. Tg. ständig Fieber. Ab 14.—19 Tag Husten. Ständige Gewichtsabnahme.	8./1. 1914	26	sp.	125	Organe makroskop. frei von tuberkulösen Veränderungen. Mikroskop. (Schnitte) Lungen: Durchsetzt von Tuberkeln, Tb. + + +, Milz: eben beginnende Tuberkel, Tb. sehr spärlich, Leber und Niere frei von Tuberkeln und Tb.
15.—21. Tg. Fieber mit leichten Remissionen. 8.—18. Tg. Husten. Gewichtsabnahme.	2./1. 1914	20	„	.	Pneumonie der Oberlappen. Peritonitis, 10 l blutiges Exsudat. Alle Organe blutüberfüllt. Nieren: Blutung zw. Rinde und Mark, mittl. Bronchialdr. vergrößert. Mikroskop. in allen Organen außer Leber, Tb. + +
Auf Infektion vorübergehender Anstieg auf 39,8, ab 4 $\frac{1}{2}$ —5 Monate Temp. leicht erhöht. 199. Tg. Anstieg, ab 200. Tg. Fieber, 203. Tg. Tier legt sich, 15.—29. Tg. Husten. Gew. steigt zunächst noch bis 157. Tg., vom 4. Monat ab ständige Abnahme.	5./7. 1914	204 = 6 $\frac{2}{3}$ Mon.	„	106	In beiden Lungen apfelgroßes Konglomerat von erbsengroßen tub. Herden, l. Bugdrüse auf das Doppelte vergr.; in ihr und ebenso in den Mediastinaldrüsen zahlreiche verkalkte Herde.
Auf Inf. vorübergehender Anstieg auf 39,5, ab 15.—19. Tg. Fieber, ebenso ab 22.—25. Tg. 26. Tg. Abfall. 14.—21. Tg. Husten. Ständige Gewichtsabnahme.	8./1. 1914	26	„	150	Organe mäßig blutüberfüllt, makr. frei von Tub. Mikrosk. (Schnitte): Lunge übersät von Tuberkeln, Tb. + + +, Leber und Milz spärliche kleinste Tuberk., Tb. + +. Niere frei v. Tuberkeln u. Tb.
5. Tg. Anstieg, bis 15. Tg. leicht erhöht. 15. Tg. Anstieg auf 40,3, fiebert hoch bis zum Tode. 14. bis 17. Tg. Husten. Gewichtsabnahme.	31./12. 1913	18	„	.	Makroskop. frei von Tub. Alle inneren Organe stark hyperämisch. Leber stark fleckig. Mikroskop. (Schnitte): in allen Organen Tb. +, in Lunge + + +; Tuberkelbildung nur in Lunge.
89.—93. Tg. l. erhöhte Temp., ebenso 160—164. Tg., ab 210.—212. Tg. Temp. unruhig, bis 39,5, dann zw. 38 u. 39°, 11.—17. Tg. Husten. Ab 73.—200. Tg. mangelnde Freßlust. Gew. steigt bis 200 kg (80. Tg.) fällt auf 167 kg (171. Tg.) u. steigt dann wieder auf 190 kg.	10./8. 1914	240 (8 Mon.)	getötet	190	„Impfstelle nicht verändert. Die äußere und innere Besichtigung bot nichts Besonderes.“ (Dr. Gminder)
Temp. 6—13. Tg. leicht erhöht, ab 14.—18. Tg. hohes Fieber, ab 9. Tg. Husten, starke Gewichtsabnahme.	31./12. 1913	18	sp.	132	Makr. frei von Tub. Alle inneren Organe stark blutüberfüllt. Leber teilw. zersetzt, fleckig. Mikr. Tuberkelbildung reichlich. Lunge, spärlich in Leber. Tb. in Lunge + + +, Leber, Milz und Niere +
Temp. 7.—13. Tg. l. erhöht. 47. u. 190 Tg. Zacken bis 43,1 bzw. 39,5°. Bis z. Tode nur ganz selten über 39,3 bis 39,4, ab 219. Tg. unter 39°. Ab 12.—200. Tg. Husten. Gewicht steigt allmählich bis 256 kg (200. Tg.), nimmt dann wieder ab (214. Tg. 244 kg).	28./8. 1914	258	getötet	247	„Ohne Besonderheiten“ (Dr. Gminder).



stets fieberfrei, Rd. B und D zeigten vereinzelte „Zacken“ bis 40,0 bzw. 40,5°, während bei Rd. E solche „Zacken“ (39,8—40,2°) häufiger waren.

Rd. E war auch das einzige, das nach der Vorbehandlung eine vorübergehende Gewichtsabnahme um 4 kg aufwies, während bei den anderen 5 Rindern eine stetige, gute Gewichtszunahme bis zur Nachimpfung festzustellen war.

Die zur Nachimpfung gewählten Dosen waren, wie der Stamm „P 8“, die gleichen, die Lindemann angewandt hatte und wie sie auch bei der Prüfung des Bovovaccin- und Taurumanverfahrens im Ges.-Amt genommen worden waren.

Bei den 2 Kontrolltieren wurde — von den guten Erfolgen Lindemanns beeinflusst — absichtlich eine etwas geringere Menge gegeben, um die erhofften günstigen Ergebnisse noch augenscheinlicher zu gestalten.

Wie die Tabelle ergibt, hat sich die zur Nachimpfung verwendete Kultur bei der intravenösen Impfung als sehr virulent erwiesen, was vielleicht damit zusammenhängt, daß die Bouillonkultur noch verhältnismäßig jung war. (Auch ein mit der Standarddosis von 0,01 mg iv. geimpftes Kaninchen ging schon nach 38 Tagen an generalisierter Tuberkulose ein.) Aber man hätte trotzdem bei den vorbehandelten Tieren wenigstens einen gewissen Resistenzunterschied erwarten sollen. Es wurde jedoch eine geradezu überraschende Übereinstimmung des klinischen Verlaufs — Fieberanstieg am 14. und 15. Tag — bei den mit gleichen Dosen geimpften Tieren beobachtet.

Der Umstand, daß einerseits die mit 2,5 mg, gegenüber 2,0 mg beim Kontrolltier, geimpften Rinder A und D um 8 Tage länger am Leben blieben, daß andererseits die gleichzeitig bzw. 2 Tage nach der Kontrolle gestorbenen Rinder E und B die  $2\frac{1}{2}$ -fache Infektionsdosis erhalten hatten, kann natürlich nicht als ein irgendwie ausschlaggebender Erfolg angesehen werden. Bei den intravenös nachgeimpften Tieren hat sich fernerhin auch kein Unterschied hinsichtlich der beiden zur Vorbehandlung verwendeten Emulsionen ergeben.

Von den subkutan nachgeimpften Versuchsrindern ist Rd. C nach fast 7 Monaten der Infektion erlegen und bot eine mittelgradige Tuberkulose dar, die aber zweifellos die alleinige Todesursache war, während Rd. F infolge Kriegsausbruches, ebenso wie 2 Wochen später Rd. H, geschlachtet werden mußten. Für die Annahme des Sektionsbefundes bin ich Herrn Dr. Gminder zu Dank verpflichtet. Bei der subkutanen Verimpfung erwies sich also die gleiche Kultur als äußerst schwach virulent (womit auch der Kaninchenbefund übereinstimmt: nach 10 mg sk. Tod erst nach 149 Tagen). Unter Berücksichtigung dieses Umstandes könnte sogar der Ausfall des Versuches bei Rd. C für eine geringere Wirksamkeit der mit Tb. Lup. I hergestellten Emulsion sprechen. Der Unterschied in den Dosen bei Versuchs- bzw. Kontrollrind fällt bei der subkutanen Impfung noch viel weniger als bei der intravenösen ins Gewicht.

Wenn auch die Weiterverfolgung der Befunde Lindemanns, wie oben mitgeteilt, dessen tatsächliche Erfolge als weniger günstig herausstellte, als es zunächst den Anschein hatte, so steht demnach die neue Versuchsreihe doch in starkem Gegensatz zu der Lindemanns. Als Erklärung hierfür wird man in erster Linie die stärker virulente Nachimpfung — aber nur für die intravenös geimpften Tiere — heranziehen können. Von einer wirksamen Schutzimpfung muß man aber, wie erwähnt, zum mindesten eine merkliche Verzögerung im Infektionsverlauf verlangen, und davon kann — vom früher als die Kon-

trolle gestorbenen Rd. C ganz abgesehen — keine Rede sein. Neben der andersartigen Infektion könnte man schließlich noch den Umstand heranziehen, daß die Emulsionen, wie mitgeteilt, infolge Motorstörung vor dem letzten 3-tägigen Schütteln 23 Tage lang bei 37° gestanden hatten, wodurch unter Umständen ein weitergehender Abbau der Tb. verursacht wurde. Hiergegen ist aber zu sagen, daß 1) bei der mikroskopischen Untersuchung am Tage der Schutzimpfung sich in beiden Aufschwemmungen noch reichlich voll-säurefeste Stäbchen fanden, und daß 2) Zeuner (Centralbl. f. Bakt. Bd. 54. S. 348) selbst vorschlägt, „neben ergiebigster warmer Schüttelung die Erhitzung auf 72° noch viel länger zu benutzen, als er es selbst getan hat“. Außerdem dürfte das ruhige Stehen der Emulsion unter Absetzen der Tb. gegenüber dem vorgeschriebenen 10 Tage langen Schütteln keine sehr in Betracht kommende stärkere Auflösung der Tb. bewirkt haben. Alles in allem muß demnach leider auch für das Zeuner-Brollische Verfahren festgestellt werden, daß es die auch von uns anfänglich daran geknüpften Hoffnungen nicht erfüllt hat.

Loeffler berichtete in der Deutsch. med. Wochenschr. 1913. Nr. 22 über auffallend gute Erfolge bei der Immunisierung von Kaninchen durch mehrmalige intravenöse Einspritzung von längerer Zeit bei 65—70° getrockneten Tuberkelbazillen. Auch für dieses Verfahren schien uns eine Nachprüfung angezeigt zu sein. Ueber die Ergebnisse unserer diesbezüglichen Versuche müssen und können wir ganz kurz berichten.

Zur Vorbehandlung wählten wir 3 verschiedene Tb.-Stämme („St.“ und „P 8“-bovin und „B II“ nach damaliger Ueberlieferung human, aber wie sich inzwischen herausgestellt hat, ebenfalls von bovinem Typus) aus. „St.“ und „B II“ wurden 7 Tage bei Zimmertemperatur im Vakuumexsikkator, darauf 17 Tage bei 64—71° C getrocknet, bei „P 8“ betrug die beiden Zeiten je 12 Tage. Durch fortlaufende Meer-schweinchenverimpfung wurde für alle 3 Stämme vom 12. Tage der Trocknung an Abtötung der Tb. festgestellt. Die Schutz einspritzungen wurden entsprechend den von Loeffler für seine Kaninchen II, VIII und IV angegebenen Zeiten und Dosen vorgenommen, nur mit dem geringen Unterschied, daß L. die 2. Vorbehandlung 14, 19 oder 20 Tage nach der ersten, wir aber — aus äußeren Gründen — nach 21 und 23 Tagen ausführten. Von 10 von uns in den Versuch genommenen Kaninchen verloren wir 2 Tiere durch interkurrente Erkrankungen, 4 Tiere durch Anaphylaxie nach der 2. Vorbehandlung, sowie 1 Tier desgleichen nach der 3. Schutzimpfung, so daß nur 3 Tiere zur Nachimpfung, die entsprechend dem so besonders resistent erwiesenen Loefflerschen Kaninchen VIII 5 Tage nach der letzten Vorbehandlung erfolgte, gelangen konnten. Die Dosis der intravenösen Nachimpfung betrug bei einem Tier wie bei L. 4 mg, bei den 2 anderen Tieren 0,5 mg einer 4 Wochen alten Bouillonkultur von „P 8“. Das eine der mit 1/2 mg nachgeimpften Tiere hatte schon bei der 2. Vorbehandlung einen vorübergehenden anaphylaktischen Anfall gehabt; es ging 1 Tag nach der Nachimpfung ein. Das andere, ebenso nachinfizierte Kaninchen starb nach 26 Tagen und wies Miliartuberkulose der Lunge und Leber und zahlreiche Tuberkel in der Niere, also hochgradigste Tuberkulose, auf. Das 3. mit 4 mg „P 8“ nachgeimpfte Tier ging zu gleicher Zeit mit dem zugehörigen Kontroll-

tier am 19. Tage nach der Nachinfektion ein. Bei Versuchs- wie Kontrolltier fand sich ganz gleich ausgeprägte Miliartuberkulose der Lunge vor.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß auch das Loefflersche Verfahren der Nachprüfung nicht standgehalten hat. Auf die Anaphylaxiegefahr bei dem vorgeschlagenen Immunisierungsgang ist besonders hinzuweisen.

4. Vortrag. Ludwig Lange (Dahlem) und H. E. Kersten (Münster i. W.):

**Ueber einige Beobachtungen bei chronischer Meerschweinchen-tuberkulose.**

Den Ausgangspunkt für die folgenden Mitteilungen bildet ein auffallender Befund, den wir Mitte Mai d. J. an einem an generalisierter Tuberkulose eingegangenen Meerschweinchen erheben konnten: Meerschweinchen 562 war 203 Tage vor seinem spontanen Tod mit 1 Oese einer 3 Monate alten Kultur des bovinen Stammes „P 8“ auf schwach saurem Glycerinagar (Tb.-Agar) sk. infiziert worden. Die stark vergrößerte Milz ( $6 \times 3 \times 1$  cm) zeigte unregelmäßig verteilte gelblich-weiße ausgedehnte tuberkulös veränderte Einlagerungen, die zum Teil flach-knotig vorsprangen. Schon am uneröffneten Organ wurde durch leicht graublau durchschimmernde Bezirke inmitten der veränderten Stellen der Verdacht auf das Vorhandensein zystenartiger Erweichungsherde erweckt. Beim Einschneiden in eine solche Stelle ergab sich, daß wir tatsächlich Höhlen vor uns hatten, die mit einer leicht trüben unter einem gewissen Ueberdruck stehenden Flüssigkeit gefüllt waren. Von derartigen Höhlen wurden dann nicht weniger als 5 vorgefunden. Ihre Größe schwankte von Kleinlinsen- bis Haselnußkerngröße, die Form war annähernd kugelig, manchmal auch etwas länglich. Der längste der Durchmesser betrug 11 mm. Die größeren Höhlen durchsetzten die Milz in ihrer ganzen Dicke von der Vorder- bis zur Hinterfläche. Die dünnsten Wandstellen waren fast nur durch die Milzkapsel gebildet. (Demonstration des Kayserling-Präparates.) Nach der Entleerung des Inhaltes hatte man das Bild von Kavernen vor sich. Mikroskopisch, im ungefärbten Präparat vom Zysteninhalt, fanden sich Detritusmassen mit Fetttröpfchen, einige Cholesterintafeln und Tripelphosphatkristalle. Nach Ziehl nur äußerst spärliche Tb. von kurzer, gerader Form. Giemsa-Präparate ließen keine Spirochäten oder andere Mikroorganismen erkennen. Beimpfte Agarplatten blieben steril.

Es unterliegt also wohl keinem Zweifel, daß es sich nicht um eitrig-einschmelzung infolge einer Mischinfektion, sondern um eine reine Wirkung der tuberkulösen Infektion handelte.

Bei dem gleichen Tiere fanden sich in der Lunge eine kleinere und eine größere Kaverne mit massenhaften Tuberkelbazillen im Ausstriche, worauf wir noch zu sprechen kommen werden.

Wir waren anfangs geneigt, die Höhlen in der Milz als „Zysten“ zu bezeichnen, sind aber davon abgekommen, da man unter Zysten meist nur Hohlräume in primär drüsig gebauten Organen begreift. Wie schon von vornherein anzunehmen war und auch die Untersuchung im Schnitte ergab, ist bei den vorliegenden Milzveränderungen nichts von irgendeiner

Wandauskleidung mit Epithel zu bemerken gewesen, sondern die Höhlen sind rings von nekrotischem Gewebe umgeben. Es handelt sich eben um eine flüssige Einschmelzung zuvor verkästen Gewebes. Ein derartiger Milzbefund war uns bislang noch nicht bekannt gewesen; in der Literatur fanden wir keine diesbezügliche Angabe, wenigstens in bezug auf Meerschweinchen<sup>1)</sup>. Was die menschliche Pathologie betrifft, so spricht Ziegler vom Vorkommen käsiger Knoten von verschiedener Größe in der Milz, mit meist erweichtem Zentrum, wie er auch erwähnt, daß sich in größeren Knoten der Leber eine zentrale Erweichung einzustellen pflegt, so daß kleine „Höhlen mit eitrigem, oft gallig gefärbtem Inhalt“ entstehen. Kitt (Allgemeine Pathologie) gibt an, daß sich beim tuberkulösen Rinde in der Milz „Hohlräume von Nußgröße, fast 2 Finger oder sogar 1½ Spannen Ausdehnung finden, die eine schmierige, käsigeitrig, auch schleimige Zerfallsmasse beherbergen“.

Seit unserer ersten Beobachtung haben wir auf weitere derartige Befunde gefahndet. Zunächst haben wir, um das vorwegzunehmen, ein Stückchen Kavernenwand von Mw. 562 auf Mw. 672 sk. verimpft. Dieses Tier starb nach 83 Tagen. In der Milz fanden sich ein linsengroßer, innen verkäster und einige andere kleinere, ebenfalls zentral erweichte Herde vor. Wir können diesen Befund als Vorstufen der ausgebildeten Kavernen betrachten.

Das erste Tier, bei dem wir wieder Milzkavernen fanden, war Mw. 4086. Es hatte am 11. September 1919 100 mg Rtb. Lehe, 2 Std. im Dampf erhitzt, sk. erhalten und war nach 3 Monaten, am 15. Dezember 1919, mit 0,0001 mg Lehe nachinfiziert worden. Es ging nach 185 Tagen = 6 Monaten ein. In der Milz mehrere bis linsengroße Kavernen. (Von den 4 gleicherweise nachinfizierten Kontrollen starb das letzte schon nach 71 Tagen. Befund: Generalisierte Tuberkulose, keine Kavernen!)

Eine kleine, kaum stecknadelkopfgroße Cyste (Kaverne?) unter dem Ueberzug der Milz, mit klarem Inhalt, fand sich bei Mw. 684, das 112 Tage vor dem Tode mit 500 Tb. des Mtb.-Stammes 115 sk. infiziert worden und 1 Monat nach dieser Infektion mit 0,05 g Deutereoalbumose intramuskulär gespritzt worden war.

Eine nähere Untersuchung dieser Zyste unterblieb infolge äußerer Gründe bedauerlicherweise, so daß wir auf diesen Fall nicht weiter eingehen können.

Schließlich konnten wir den Befund einer linsengroßen Milzkaverne und mehrerer Vorstufen noch bei Mw. 607 erheben. Dieses Tier war 160 Tage vor seinem Tode mit 0,5 mg des Belages einer 135 Tage alten Bouillonkultur des Rtb.-Stammes „Neufeld“, bei der die Bouillon einen Zusatz 1:20000 von Karbolfuchsin erhalten hatte, sk. infiziert worden.

In allen den erwähnten Fällen wurden Paraffinschnitte durch die Milz hergestellt und nach Ziehl gefärbt. Stets wurden entsprechend den an dem frischen Ausstrich erhobenen Befunden auch im Schnitt in den Milzkavernen nur äußerst spärliche Tuberkelbazillen gefunden.

Bei unseren sämtlichen Fällen von Befund von Kavernen oder von Vorstufen solcher in der Meerschweinchenmilz handelt es sich um Tiere,

1) Erst in den soeben, Anfang Oktober, erschienenen „Vorlesungen über Tuberkulose“ von Löwenstein finden wir, daß der Verf., aber auch Hamburger und Sörgo, außer in der Lunge auch in der Leber und Milz bei sehr chronisch kranken Meerschweinchen vollkommen glattwandige erbsengroße Kavernen beobachtet haben. Immerhin würde unser Ausgangsfall durch die Größe und Zahl der Milzkavernen und deren flüssigen Inhalt eine gewisse Sonderstellung einnehmen.

die eine Lebensdauer von  $2\frac{1}{2}$  bis  $6\frac{1}{2}$  Monaten nach der Infektion erreicht hatten. Damit mit verhältnismäßig großen Dosen tuberkulös infizierte Meerschweinchen die Impfung so lange überstehen können, muß entweder herabgesetzte Virulenz der verimpften Tb. oder erhöhte Resistenz der geimpften Tiere vorliegen oder beides gleichzeitig.

Eines dieser Momente trifft denn auch bei jedem unserer Tiere zu. Man könnte also geneigt sein, das Auftreten der Kavernen lediglich als eine Funktion der langen Krankheitsdauer anzusehen. Daß aber die Länge der Krankheit nicht den allein ausschlaggebenden Grund darstellt, geht daraus hervor, daß wir über eine große Zahl von Beobachtungen verfügen, nach denen sich bei Tieren, die die Infektion gleich lange oder auch noch länger überstanden haben, keine Spur von Milzkavernen fand. Es muß also noch etwas Anderes dazukommen, worüber sich allerdings bis jetzt nur Vermutungen aufstellen lassen. Wir sind geneigt, den letzten Grund doch mehr auf seiten des Tieres als der Bazillen zu suchen, und denken dabei an Resistenz- oder Immunitätserscheinungen.

Auch ohne daß ein resistenzerhöhender Eingriff in das Tier gemacht wird, genügen ja schließlich die normalen oder durch die Impfung mit einem abgeschwächten Infektionserreger noch vermehrten oder erst angeregten Antikörper, um dem Tiere gegenüber geschwächten Tb. eine erhöhte Widerstandskraft zu verleihen.

Der Vergleich der Milz- mit den Lungenkavernen drängt sich sofort auf.

Es ist bekannt, daß Behring in den Kavernen einen Immunitätsausdruck erblickte und daß neben anderen hauptsächlich Römer den gleichen Standpunkt einnahm (Berl. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 18). Römer beobachtete, nebenbei erwähnt, auch einmal in der Leber eine bohngroße Kaverne, bei Mw. 7695, das 2 Jahre 2 Monate vor dem Tode mit 0,0001 mg boviner Tb. sk. geimpft worden war. Es erscheint von Interesse, daß ein zweites, mit 1,0 ccm Drüsenemulsion des eben genannten Tieres geimpftes Meerschweinchen bei seinem schon nach 101 Tagen erfolgten Tode wieder in der Lunge Kavernen aufwies. Wir haben damit eine Parallele zu unserem oben erwähnten Mw. 607, der sogenannten 2. „Milzkavernengeneration“, bei dem, wie mitgeteilt, schon nach 83 Tagen wenigstens unverkennbare Vorstufen von Milzkavernen gefunden wurden. Die Eigenart, Virulenz, des Stammes spielt eben in dem oben angedeuteten Sinne doch auch eine gewisse Rolle<sup>1)</sup>.

Für einen Zusammenhang mit Immunitätsvorgängen sprechen unseres Erachtens die Beobachtungen von Polack Daniels<sup>2)</sup>, nach dessen Angaben Meerschweinchen, wenn sie nur nicht zu früh sterben, bei virulenter Infektion unter Tuberkulin-Behandlung, bei wenig virulentem Impfmateriel auch ohne Tuberkulin Lungenkavernen bekommen, während bei Infektion mit wenig virulenten Stämmen die Kavernenbildung durch Tuberkulin beschleunigt wird. Auch die Orth-Rabinowitschschen Befunde an Meerschweinchen, die mit Schildkrötentb. vorbehandelt waren, werden von Orth<sup>3)</sup> im Sinne einer Resistenzerscheinung gedeutet.

Haben wir demnach hinsichtlich der Entstehungsursache eine gewisse Ähnlichkeit zwischen Milz- und Lungenkavernen, so treffen wir außer

1) Versuche mit verschiedenen Generationen des aus Mw. 562 herausgezüchteten Tb.-Stammes P 8 sind im Gange.

2) Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf. 1909. S. 778.

3) Berl. klin. Wochenschr. 1906. S. 645.

den auf dem verschiedenen Aufbau der Organe beruhenden histologischen Unterschieden vor allem solche im Tb.-Gehalt. Bei der Mehrzahl der Lungenkavernen, wie z. B. in den oben erwähnten Kavernen bei Mw. 562, findet sich in deren Wand stärkste Vermehrung der Tb. vor. Wie man auf Schnitten durch solche Kavernen auf das schönste<sup>1)</sup> sehen kann, sitzen in den auflagernden nekrotischen Massen die Tb. in dicken Klumpen, Zöpfen und Nestern, ganz wie in künstlichen Reinkulturen. Die Erklärung für diese massenhafte Vermehrung finden wir darin, daß die Tb. in Kavernen, die mit der Außenwelt in freier Verbindung stehen, richtige „Brutschrankbedingungen“ vorfinden: Sauerstoffzutritt, Wärme, Feuchtigkeit und als Nährboden das nekrotische Zellmaterial. Durch die Ausschaltung der meist starrwandigen Kavernen vom Atmungsvorgang wird die wahrscheinlich optimale mittlere Sauerstoffspannung erzeugt; der Zutritt des Blutes mit seinen etwaigen Abwehrstoffen ist behindert.

Man findet aber auch in der Lunge manchmal kleine, rings von tuberkulös infiltriertem Gewebe umgebene, nicht mit dem Bronchialbaum in Verbindung stehende Kavernen. In solchen nun werden, ganz entsprechend wie in der Milz nur ganz vereinzelte Tb. angetroffen. Das Entscheidende ist die Frage des O<sub>2</sub>-Zutrittes. In der Milz (und auch in der Leber) haben wir, ähnlich wie in den abgeschlossenen Lungenkavernen, stets mehr oder weniger anaerobe Verhältnisse vor uns. Damit ist den Tb. die wesentlichste Bedingung zu ihrer massenhaften Vermehrung genommen, und so erklärt sich der Unterschied im Bazillenreichtum gegenüber den Lungenkavernen mit Bronchialverbindung sofort.

Mit den anaëroben Verhältnissen dürfte unseres Erachtens auch die Verflüssigung der Erweichungsherde zusammenhängen. Verflüssigung, Colliquatio, findet man in der menschlichen Pathologie vor allem in anämischen, also ebenfalls von der Sauerstoffzufuhr abgeschnittenen Infarkten des Gehirns und außerdem bei gangränösen, durch anaërobe Fäulniserreger hervorgerufenen Prozessen, wie auch in den abgestorbenen intrauterinen Föten.

Anhangsweise sei erwähnt, daß Levy, Blumenthal und Marxer<sup>2)</sup> an der Impfstelle eines mit Glyzerin behandelten Tb. immunisierten Meerschweinchens nur eine mit wässerigem Inhalt gefüllte Zyste vorfanden.

## 5. Vortrag. Petruschky (Danzig):

### Bekämpfung der Tuberkulose im Kindesalter.

Es ist meine Absicht, ein Problem hier zur Besprechung zu stellen, dessen Lösung wir so weit nahe gekommen zu sein scheinen, daß sich wesentliche Aenderungen für das praktische Handeln in Sachen der Tuberkulosebekämpfung ergeben müssen; Aenderungen, deren Durchführung aber so lange auf Schwierigkeiten stößt, als die ausschlaggebenden Verwaltungsstellen sich darauf berufen können, daß die Mei-

1) Nach der Methylenblaugegenfärbung empfehlen wir noch besonders die Differenzierung in stark verdünnter (1:1000) Essigsäure.

2) Centralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 46.

nungen der Gelehrten noch weit auseinandergehen. Das war wohl früher in sehr erheblichem Maße der Fall, aber mir scheint doch durch die von Koch angebahnten, durch seine Schüler fortgeführten Forschungen manches jetzt so weit aufgehellte, daß ein wesentlicher Widerstreit der Meinungen wenigstens in den praktisch ausschlaggebenden Punkten nicht mehr zu bestehen scheint. Das ist von besonderer Wichtigkeit in der gegenwärtigen Zeit, wo die gesetzliche Bekämpfung der Tuberkulose vor der Tür steht und den Hygienikern sowohl bei der bevorstehenden Beratung eines Tuberkulosegesetzes für das Deutsche Reich als auch besonders bei der späteren Festsetzung der Ausführungsbestimmungen des Gesetzes und bei den kommunalen Maßnahmen Gelegenheit gegeben werden dürfte, zu Worte zu kommen. Da ist es natürlich nicht nur erwünscht, sondern notwendig, daß unter den Hygienikern und Mikrobiologen selbst die Meinungsverschiedenheiten durch Aussprache zunächst möglichst ausgeglichen oder wenigstens geklärt werden.

Ich nenne sogleich den Punkt, der mir für das gesamte Problem der wichtigste scheint: das möglichst frühzeitige Einsetzen des Kampfes gegen die Tuberkulose des Kindesalters. Von den früher so heiß umstrittenen Fragen halte ich für weitgehend geklärt die der „Heredität“. Die früher schroff einander gegenüberstehenden Ansichten R. Kochs und P. v. Baumgartens haben sich in der ursprünglichen Form beide nicht halten lassen. Weder die direkte Entstehung der Lungenschwindsucht beim Erwachsenen durch Einatmung verstreuter Tuberkelbazillen, noch die Annahme vorwiegender Vererbung des Infektionskeimes auf den Neugeborenen. In der Frage der langen Latenz des Tuberkulosekeimes beim Menschen hat v. Baumgarten im wesentlichen Recht behalten, in der Frage der vorwiegenden erblichen Uebertragung aber nicht. Das Ergebnis der Forschungen des letzten Jahrzehnts ist die Frühinfektion im Kindesalter. Die ausgedehnte Anstellung der Hautprobe (Pirquet) bei jungen Kindern hat weitgehenden Aufschluß über den Zeitpunkt der Infektion gegeben. Was zunächst die Zuverlässigkeit dieser Probe beim Menschen anlangt, so muß ich sie, je länger ich sie handhabe, als sehr weitgehend ansehen auch bei Erwachsenen. Ein Schüler von mir, Rud. Peters, hat neuerdings 5000 von mir geprüfte Fälle in einer Dissertation verarbeitet<sup>1)</sup> und ist ebenfalls zu dem Urteile sehr weitgehender Zuverlässigkeit der Probe gelangt, und zwar nicht nur des positiven Ausfalls, sondern auch des wiederholt negativen Ausfalles der Probe. Der einmal negative Ausfall besitzt diese Zuverlässigkeit noch nicht. Eine nach Möglichkeit bis dreimalige Wiederholung in scheinbar negativen und doch verdächtigen Fällen steigert die Zuverlässigkeit außerordentlich. In dieser Weise sollte die Prüfung Neugeborener und solcher Kinder, die das erste Lebensquartal nicht überschritten haben, in noch weit ausgedehnterem Maße vorgenommen werden, um die Erfahrung ganz allgemein zu festigen, daß die Kinder in dieser Zeit mit ganz geringen Ausnahmen noch frei von Tuberkulose sind, selbst in Familien, in denen ein Mitglied an offener Tuberkulose leidet. Dann beginnt schon die erste Aera der Infektion, in der zunächst die Familieninfektion ganz vorwiegt und mit allen Mitteln zu bekämpfen ist. Mit „Belehrung“ ist, wie auch Kirchner in seiner ausgezeichneten Festschrift mit Recht betont, nicht viel zu machen. Die Entfernung des jungen Kindes

1) Die Arbeit erscheint in Brauer Beitr. z. Klinik d. Tub.

aus der infizierten Wohnung, wenn nötig auch von der ansteckenden Mutter, ist der notwendige Weg einer wirksamen Prophylaxis, wenn nicht die Entfernung des ansteckenden Familienmitgliedes leichter durchführbar ist.

Die zweite Aera der kindlichen Infektionen beginnt mit dem Zeitpunkt, wo die Kinder die Straßen und öffentlichen Spielplätze betreten. Die Straßenhygiene ist bei uns leider noch sehr im Rückstande und seit der Zeit des Krieges und der Umwälzungen noch wesentlich schlimmer geworden. Zu einem Straßenspuckverbot mit Strafbestimmungen, wie es wohl am frühesten New York erließ, hat man sich in Deutschland meines Wissens noch nirgends entschlossen. Das rücksichtslose Speien des Auswurfs auf den Bürgersteig kann man in großen und kleinen Städten namentlich in den frühen Morgenstunden, in denen die Arbeitsstätten aufgesucht werden, allerwärts beobachten. Der gewarnte Erwachsene vermeidet ja das Treten auf solche Sputa. Das Kind tritt achtlos darauf und verschleppt den Auswurf auf öffentliche Spielplätze und ihre schönen Sandhaufen oder auf die Treppen der Häuser und in Wohnungen, die bisher frei von Tuberkulose waren. Ich habe früher durch meinen Laborator mehrfach Beobachtungen über die Verschleppung von Auswurf anstellen lassen, welche beweisen, daß es sich hier nicht bloß um theoretische Möglichkeiten, sondern um tagtägliche Vorgänge handelt.

Diese Verschleppung von Auswurf mit den Schuhsohlen gewinnt mit dem Beginn der Schulzeit eine ganz besondere Bedeutung, weil nun die Infektion der Schultreppen und Schulräume eine besonders gute Gelegenheit zur Verbreitung der Infektion unter den Schulkindern gibt. Durch Schmierinfektion, durch Fußbodenstaub, durch zur Erde gefallene Bleistifte, Federn und Hefte können Keime übertragen werden. Nur so kann ich mir das Anwachsen der Drüsentuberkulose im Schulalter erklären, da eine Infektionsgefahr durch Lehrer und Schüler mit offener Tuberkulose glücklicherweise sehr viel seltener ist als diese tägliche Infektionsgelegenheit von der Straße her.

Der Erlaß und die Durchführung strenger Bestimmungen für die Straßenhygiene müssen daher eine unabweisbare Forderung der kommunalen Hygiene werden! Auch für einen Schutz der Schulen durch besondere Vorrichtungen zur Reinigung der Schuhsohlen muß gesorgt werden. Das Ablegen der Straßenschuhe, wie es in Japan Volksbrauch ist, wird bei uns in absehbarer Zeit nicht zu erreichen sein. Das Barfußgehen der Kinder im Sommer wirkt erzieherisch im hygienischen Sinne. Der nackte Fuß empfindet das Hineintreten in Auswurf unangenehmer als der bekleidete und hütet sich später auch beschuht schon im Unterbewußtsein davor. Gelegenheit zur feuchten Reinigung der Fußsohlen und Schuhsohlen sollte in den Schulen gegeben werden. Darüber, daß gegenwärtig in der Schulzeit die Infektion mit Tuberkulose so stark zunimmt, daß die 14-jährigen Kinder bereits zu mehr als  $\frac{3}{4}$  der Gesamtzahl infiziert sind, liegen hinreichende Erfahrungen von verschiedenen Seiten vor.

Eine neue, durchaus der hygienischen Beachtung bedürftige Infektionsquelle sind die stark besuchten Warteräume der Tuberkulosefürsorgestellen, in welchen nach der bisherigen Organisation ansteckende Kranke und nur „vorsichtshalber“ zur Untersuchung erscheinende Familien gemeinsam längere Zeit zu warten pflegen. Hier ist die Infektionsgefahr keine andere als in einer großen Familie, in der sich ein



oder mehrere ansteckende Tuberkulose befinden. Die wesentlichen Uebertragungswege sind Tröpfcheninfektion und Schmierinfektion durch Händedruck und Türklinken. Zur Abwendung der Gefahr ist die Einrichtung getrennter Warteräume oder wenigstens getrennter Sprechstunden für Kranke und „Prophylaktiker“, namentlich Kinder, zu empfehlen. Bekanntlich kommt es letzteren oft nur auf Erlangung von Milchkarten etc. an. Durch Mitnahme einer tuberkulösen Infektion dürften solche Wohltaten doch wohl zu teuer erkaufte sein.

Ein bisher noch umstrittener, nunmehr anscheinend in der Klärung begriffener wichtiger Punkt ist die Frage des Verlaufs der tuberkulösen Infektion im Kindesalter.

Was zunächst die Widerstandskraft der Kinder gegen die tuberkulöse Infektion anlangt, so nehmen einige Beobachter, wie z. B. Kirchner und R. Pfeiffer, an, daß bei den Schulkindern unter 14 Jahren die natürliche Widerstandskraft größer sei als im Pubertätsalter und der darauffolgenden Periode.

Ich kann mich dieser Auffassung auf Grund meiner mehr als 25-jährigen ärztlichen Erfahrungen nicht anschließen. Ich habe die Ueberzeugung gewonnen, daß die Widerstandskraft gegen tuberkulöse Infektion mit steigendem Alter ständig wächst. Mir ist die verhältnismäßig geringe Tuberkulosesterblichkeit der Schulkinder hinreichend erklärt durch den langsamen Verlauf der primären tuberkulösen Drüseninfektion. Dieses Drüsenstadium ist während des Schulalters noch vorherrschend, daher relativ langsamer Verlauf trotz geringer Widerstandskraft. Das zweite Stadium, das der Metastasenbildung, und das dritte, des Gewebszerfalls gehen in rascherer Folge der Krankheitserscheinungen unter Fieber vor sich und treffen dann häufig das Alter zwischen 15 und 25 Jahren, und daher wird der Anschein erweckt, daß die Widerstandskraft dieses Alters geringer sei als die der Kinderzeit, während in Wirklichkeit nur die Widerstandskraft der infizierten Individuen bereits durch langes Kranksein geschwächt oder ganz gebrochen ist. Gesunde Individuen, die das Pubertätsalter erreicht haben, sind nach meinen Beobachtungen in der Regel gegen tuberkulöse Infektion schon viel weniger empfänglich als kleinere Kinder. Bei ihnen entwickelt sich eine frische Infektion daher noch langsamer als bei kleineren Kindern und ist durch ärztliche Maßnahmen noch leichter zum Rückgange zu bringen. Die von anderer Seite vertretene Auffassung indessen, daß Infektionen nach dem 14. Lebensjahre überhaupt nicht mehr gefährlich seien, halte ich für viel zu weitgehend. Ich glaube Beweise dafür zu haben, daß Ansteckung auch noch im späteren Alter, auch z. B. unter Ehegatten, wenn auch selten, erfolgt. Das bekannte Auftreten offener Tuberkulose im Greisenalter spricht auch für das zeitweilige Vorkommen später, langsam verlaufender Infektionen. Es liegt also kein Anlaß vor, die Vorsicht gegenüber der Infektion in irgendeinem Lebensalter für ganz überflüssig zu halten!

Die Aufdeckung des typischen „zyklischen“ Verlaufs der tuberkulösen Infektion in den 3 genannten Stadien und das oft wiederholte Hindrängen auf eine Frühdiagnose und Frühtherapie der Tuberkulose ist bekanntlich meine Lebensarbeit seit meiner Assistentenzeit bei Koch gewesen. Ich habe recht lange im Kampfe für diese Erkenntnis und ihre Folgerungen fast allein gestanden, glaube aber, daß nach den wichtigen tierpathologischen Forschungen Roemers und den

überzeugenden Beobachtungen Rankes wohl gegenwärtig kaum noch eine scharfe Gegnerschaft gegen die neue Auffassung vorhanden ist. Die praktisch wesentliche Seite der neuen Erkenntnis ist die: die Infektion erfolgt früh, entwickelt sich aber zunächst langsam, sie läßt daher dem Arzte lange Zeit zu rechtzeitigem Eingreifen mit allen Mitteln der Frühdiagnostik und Frühtherapie. Es besteht daher durchaus die Möglichkeit einer Verhütung der ansteckenden Tertiärformen der Tuberkulose und damit die Möglichkeit einer allmählichen Ausrottung der Tuberkulose durch rechtzeitige Heilung der noch nicht ansteckenden Formen. Auch hierfür hat die mikrobiologische Forschung seit Koch die wesentlichsten Mittel geliefert, auf die ich an dieser Stelle nicht näher eingehen will.

Ich wünsche nur, daß wir alle darin einig sein möchten, bei dem Kampfe gegen die Tuberkulose immer wieder auf diesen Weg hinzuweisen, der viel aussichtsvoller ist als alle jene kostspieligen Maßnahmen, die zur „Fürsorge“ für die Fälle bereits ausgebrochener offener Lungentuberkulose angewendet werden. Unser Kampf gegen die Tuberkulose muß also gegen früher eine „Frontänderung“ erfahren. Der Hauptstoß des Kampfes muß sich gegen die Vorhut des Feindes wenden, d. h. gegen die Tuberkulose des Kindesalters, und dies muß auch in der Gesetzgebung zum Ausdruck kommen!

#### Leitsätze.

- 1) Heredität—Rarität.
- 2) Frühinfektion die Regel.
  - a) Familieninfektion,
  - b) Straßeninfektion (bisher zu wenig beachtet),
  - c) Infektion in Tuberkulosefürsorgestellen (durch Trennung der Warteräume für Infektiöse und für Familienuntersuchungen zu verhüten).
- 3) Spätinfektion seltener, aber nicht ausgeschlossen.
- 4) Die Tuberkulose verläuft in 3 Stadien:
  - a) Drüsentuberkulose,
  - b) Metastasenbildung,
  - c) Gewebszerstörung.
- 5) Der Kampf gegen die Tuberkulose muß sich vorzugsweise gegen das Frühstadium, also im wesentlichen gegen die Kindertuberkulose richten, um das Entstehen offener Lungentuberkulose nach Möglichkeit zu verhüten.
- 6) Durch Gesetzgebung muß die Verhütung der Kinderinfektion angestrebt und die rechtzeitige Auffindung und Heilbehandlung der infizierten Kinder gefördert werden.

#### Diskussion zu Vortrag 1—5.

Reichenbach (Göttingen) macht darauf aufmerksam, daß Kavernen in den Lungen auch bei der Infektion mit hochvirulenten Stämmen entstehen, wenn nur der Verlauf der Infektion sich über lange Zeit erstreckt. Läßt man Meerschweinchen sehr geringe Mengen Tuberkelbazillen inhalieren, so daß nur wenige Keime in die Lunge gelangen, so kann es zur Bildung von Kavernen kommen. Solche Vorkommnisse sind von Findel beschrieben worden und auch von R. selbst beobachtet. Es scheint also neben der Virulenz des Tuberkelbazillustammes und der Disposition des Versuchstieres auch die Zeitdauer des Prozesses eine sehr wichtige Rolle zu spielen.

Was die von Herrn Petruschky als bedeutsam angesehene Möglichkeit der Infektion von Schulkindern durch Straßensputum, das mit den Stiefeln verschleppt wird, anlangt, so ist diese, wenn sie überhaupt vorkommt, sicher eine große Seltenheit. Der Umstand, daß man im Staub der Schulzimmer niemals Tuberkelbazillen findet, spricht auch dagegen.

Czaplewski erwähnt zu den Ausführungen Langes über tuberkulöse Kavernen der Milz, daß er im Museum für Volkshygiene Köln zufällig eine Milz mit tuberkulösen Kavernen von ca. 1 cm Durchmesser ausgestellt habe.

Bei Meerschweinchen erinnert er sich nicht tuberkulöse Kavernen in der Milz beobachtet zu haben, wohl aber in den Lungen, und zwar bei Versuchen mit verschieden stark verdünntem tuberkulösen Sputum und Reinkulturen.

Bei letzteren kamen merkwürdige reizlose, fibröse Knotenbildungen in der Lunge, wie Sagokörner ausschauend, zur Beobachtung, bei den Sputumversuchen auch Kavernenbildungen mit fibröser Kapsel. Er hat die schlangenförmig gewundenen Bazillenbröckel bereits in seiner „Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbazillen“ abgebildet. Hierbei fand er gelegentlich von Versuchen, Tuberkelbazillenkulturen daraus zu züchten, auch Mischinfektion mit *B. pseudotuberculosis rodentium*.

Bezüglich der Färbung der Tuberkelbazillen erinnert Cz. an ein in Deutschland wenig bekanntes, ausgezeichnetes Verfahren zur Entfärbung der Tuberkelbazillenschnitte mit Anilinchlorhydrat nach Kühne. Dasselbe ist seinerzeit von Borrel in den *Annales de l'Inst. Pasteur* beschrieben und genau mitgeteilt in der *Technique Microbiologique* von Bezançon Paris Baillière et Fils 2. Aufl. 1902. S. 538 u. 539.

Bezüglich der Uebertragung der Tuberkulose möchte Cz. auf zwei noch nicht genügend beachtete Möglichkeiten hinweisen: 1) die Uebertragung durch mit Sputum infiziertes Schuhwerk beim Schuhputzen, 2) durch das infizierte Taschentuch der infizierten Mutter, welche damit ihren Kindern die Nase putzt und dadurch die Tuberkelbazillen einreißt.

#### Neufeld:

Kruse: Abgeschwächte Tuberkelbazillenkulturen kommen vor, aber auf die Abschwächung ist kein Verlaß, so daß später höhere Virulenz hervortritt. Kavernen werden auch bei Meerschweinchen öfter in den Lungen beobachtet, namentlich bei stark chronischem Verlauf. Die Ansteckung auf der Straße und durch Stiefelputzen kann keine große Bedeutung haben. Kindertuberkulose hat vor dem Kriege keineswegs zugenommen. Derartige Behauptungen (Kirchner) beruhen auf unrichtiger Deutung der statistischen Zahlen. Die sogenannte Frühdiagnose Petruschkys ist nichts Neues und für die Prophylaxe und Therapie unerheblich.

Selter: Zur Feststellung der Frühinfektion genügt nicht die einmalige Pirquet'sche Impfung, es muß nach dem Vorgang von Hamburger noch bei negativ reagierenden die Intrakutan- oder Stichreaktion folgen. Eine Immunisierung von Tieren mit abgetöteten Tuberkelbazillen oder Tuberkulinpräparaten ist unmöglich; es gibt keine Vollimmunität bei Tuberkulose, sondern nur Immunitätserscheinungen bei infizierten Organismen, solange lebende Tuberkelbazillen in deren Inneren sind und sobald durch genügend virulente Bazillen eine Umstimmung des Körpers erfolgt ist, die allein zu einer positiven Tuberkulinreaktion führt. Kavernenbildung in Lungen wurde bei Ratten nach Inhalationsinfektion beobachtet, bei infizierten Meerschweinchen nach Reinfektion.

Uhlenhuth: Die Infektionsgefahr durch Straßensputum ist sicher nicht groß, die Straßenkehrer erkranken auffallend selten an Tuberkulose. Die Infektion in der Schule erfolgt viel häufiger als man denkt, durch Tröpfcheninfektion von seiten tuberkulöser Lehrer und Kinder, soweit sie nicht im Hause zustande kommt. Das Spucken auf die Straße ist sicher ungefährlicher wie ins Taschentuch. Ein Verbot des Spuckens auf die Straße, wie in Amerika, würde wohl bei uns zwecklos sein. Bezüglich der Immunität stehe ich nach Untersuchungen mit Joetten auf einem völlig negativen Standpunkt, den ich vor kurzem in der *Deutsch. med. Wochenschr.* 1920. Nr. 32/33 dargelegt habe. Selbst mit massiven Dosen bekam ich keinen Schutz; man muß nur die nötigen Kontrollen nehmen. Die Resistenz dauert nur so lange, wie lebende Tuberkelbazillen im Körper vorhanden sind. Da wir die Immunisierung für aussichtslos halten — eine Immunisierung mit bovinen Tuberkelbazillen

ließ sich beim Menschen nicht durchführen —, muß man mit allen Mitteln versuchen, chemotherapeutisch vorzugehen.

Meine mit Joetten ausgeführten Meerschweinchenversuche mit Gold-, Kupferpräparaten (kolloidale Metalle der Firma Heyden), Trypoflavin, Harnstoffarsenobenzol, haben leider zu bisher völlig negativem Ergebnis geführt.

E. Jacobsthal: Zu den Mitteilungen von Herrn Lange möchte ich bemerken, daß ich nicht nur kavernöse Umwandlungen der Lunge und „Kavernen“ der Leber, die übrigens nach Simmonds als ausgedehnte Gallengangstuberkel aufzufassen sind, angetroffen habe, sondern daß man bei den chronischen Tuberkulosefällen beim Meerschweinchen in den Drüsen so starke bindegewebige Reaktion finden kann, daß man pathologisch-anatomisch in einer solchen stark vergrößerten Drüse die Tuberkulose überhaupt nicht mehr nachweisen kann. Solchen Veränderungen bin ich besonders nach häufiger diagnostischer intrakutaner Tuberkulinprobe begegnet.

Zur Diagnose der Tuberkulose habe ich in neuerer Zeit ein bisher nicht angewandtes Verfahren benutzt, nämlich die intrakutane Impfung mit dem verdächtigen Material. Zur Sicherheit pflege ich daneben auf der anderen Seite noch eine subkutane Infektion anzuschließen. Das Verfahren hat den Vorteil, daß man das kleine linsenförmige Infiltrat, das sich nach 10–14 Tagen an der intrakutanen Impfstelle bildet, ausdrücken und mikroskopisch auf die dann stark angereicherten Tuberkelbazillen untersuchen kann. Histologisch ist übrigens in diesen kutanen Infiltraten die Tuberkulose keineswegs leicht nachweisbar. Ich habe festgestellt, daß bei möglichst lateraler Impfung die regionären Drüsen bei Intrakutanimpfung lange Zeit isoliert geschwollen bleiben; deswegen kann man unter Umständen bei Untersuchung eines Ureterenurins von der rechten und linken Seite dasselbe Tier in der rechten Leistengegend und der linken oberen Thoraxhälfte intrakutan impfen, und aus der Drüsenanschwellung der betr. regionären Drüsen bindende Schlüsse ziehen. Ich bin noch mit dem weiteren Durcharbeiten dieses Verfahrens beschäftigt.

Zu Herrn Schloßbergers Mitteilung möchte ich darauf hinweisen, daß der Piorkowskische Schilddrüsentuberkelbazillus in seinen Wachstumseigenschaften sich von dem Friedmannschen unterscheidet.

Endlich ist es mir bei Meningealtuberkulose mehrfach gelungen, durch 8–12-wöchige Bebrütung des genuinen Lumbalpunktates in ihm die Entstehung feinsten Flöckchen zu erzielen, die aus Reinkulturen des Tuberkelbazillus bestanden und die sich direkt kulturell überimpfen ließen. Es ist dies also eine Erweiterung des Tremburschen Verfahrens.

Messerschmidt (Hannover) spricht zur Frage der Tuberkulosebekämpfung. In der Bevölkerung ist von der Tröpfcheninfektion so gut wie gar nichts bekannt, während die Bedeutung der sonstigen Infektionswege überschätzt wird; es gilt das vor allem von der Staubinfektion. In Hannover-Linden sind die Fürsorgestellten unter dem Volke fast unbekannt, obgleich sie gut arbeiten. Aufklärung ist zur Bekämpfung dringend nötig. Der Weg dazu muß durch die Schule gehen.

Die Aerzteschaft muß zur Stellung der Frühdiagnose weit mehr Gebrauch von der Sputumuntersuchung machen. Es gilt das besonders für den vielbeschäftigten Kassenarzt.

R. Pfeiffer: Ich freue mich, aus dem Verlauf der heutigen Diskussion zu ersehen, daß eine Auffassung, die ich in dieser Versammlung schon lange vor dem Kriege vertreten habe, jetzt allgemeine Billigung zu finden scheint. Es handelt sich um die Frage der Immunität bei Tuberkulose. Meiner Ansicht nach gibt es gar keine echte Tuberkulose-Immunität, sondern nur eine durch Ueberempfindlichkeit vorgetäuschte Resistenz bei chronisch verlaufender Infektion mit Tb. Das bringt mich auf die jetzt in Aussicht stehende gesetzliche Regelung der Tuberkulosebekämpfung. Es besteht offenbar die Absicht, sämtliche Fälle offener Tuberkulose zur behördlichen Kenntnis zu bringen und dann irgendwie unschädlich zu machen, um so die Möglichkeit der Tuberkuloseinfektion funditus abzuschneiden. Ich halte diesen Gedanken wegen der enorm großen Zahl der in Betracht kommenden Menschen für praktisch undurchführbar und nebenbei auch vielleicht für nicht unbedenklich. Eine geringgradige Tuberkuloseinfektion, wie sie jetzt ja in so enormer Verbreitung tatsächlich festgestellt ist, könnte sogar durch Erhöhung der Widerstandsfähigkeit der chronisch infizierten Individuen gegen eine Superinfektion von günstiger Bedeutung werden. Worauf es ankommt, ist die Beseitigung der stark infektiösen Tuberkulosen, die massenhaft Tb. aushusten. Das ist praktisch möglich und müßte mit aller Energie gefördert und durchgeführt werden.

**Mießner:** Das Tuberkulin ist zur Bekämpfung der Tuberkulose nicht geeignet; da das Tuberkulin ein zu feines Reagens ist. Deswegen hat man sich vorläufig der Ausmerzungen der offen tuberkulösen Tiere zugewendet, aber auch diese Methode scheitert zum Teil an den Schwierigkeiten der Ausführung. Die Paratuberkulose ist einwandfrei nicht mit Geflügeltuberkulin diagnostizierbar, bessere Resultate verspricht das Paratuberkulin. Beachtenswert erscheint meine Beobachtung, daß paratuberkulöse Rinder niemals tuberkulös waren. Ob hieran ein Antagonismus zwischen Paratuberkulose und Tuberkulose schuld ist oder die Rinder durch Paratuberkelbazillen gegen Tuberkulose immunisiert werden, soll weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

**Friedberger:**

**Titze (Schlußwort):** Nach den Ausführungen scheint es so, als ob man über die ursächliche Entstehung tuberkulöser Kavernen im Klaren sei. Ref. hat als Ursachen aufgeführt: Superinfektion, geringe Virulenz einerseits und große Virulenz des Infektionsmaterials andererseits, Resistenz des Versuchstieres und Mischinfektion.

Nun hat man es aber nicht in der Hand, z. B. bei Rindern, tuberkulöse Kavernen zu erzeugen, auch dann nicht, wenn die vorhin gegebenen Bedingungen völlig erfüllt wären. Ziegen sind für diese Versuche ungeeignet, da es bei ihnen sehr leicht gelingt, Kavernen zu erzeugen sowohl nach Erstinfektion als nach Zweitinfektion ohne Rücksicht auf die Virulenz des verwendeten Stammes.

Deshalb müssen die Ursachen für die Entstehung tuberkulöser Kavernen als noch nicht völlig geklärt angesehen werden.

**L. Lange (Schlußwort):** Auch wir haben, wie erwähnt, lange zwischen den Namen Milz-Zysten und Kavernen geschwankt. Wenn Herr Kolle vorschlägt, von Höhlenbildung in der Milz zu sprechen, so heißt eben Kaverne die Höhle, entsprechend dem griechischen *koilos-cele* (*Varicocele*). Gegenüber Herrn Reichenbachs Ansicht, daß die Kavernenbildung nur eine Funktion der Zeit, d. h. der langen Dauer des Krankheitsprozesses ist, möchte ich bemerken, daß bei den Orthschen Tieren eines der vorbehandelten Meerschweinchen mit großer Lungenkaverne schon früher als die zugehörigen Kontrollen gestorben war, während diese letzteren ganz frei von Kavernen befunden wurden. Man muß also Orth<sup>1)</sup> beistimmen, wenn er sagt, daß die Länge der Erkrankung an sich nicht ausschlaggebend, wenn sie auch selbstverständlich von gewisser Einwirkung ist.

**Schloßberger (Schlußwort):** Zu der Diskussionsbemerkung des Herrn Jacobsthal, daß die Piorkowskischen Bazillen bei 37° nicht gedeihen, möchte ich nur ganz kurz bemerken, daß unser Stamm aus einer Originalampulle *Chelonin* gezüchtet wurde und bei 37° ausgezeichnet wächst.

8. September 1920 abends. Vorsitzender: Kolle.  
(Sitzung im Demonstrationssaal der Firma Zeiss.)

6. Vortrag (mit Demonstrationen). E. Bresslau (Frankfurt a. M.):  
**Experimentelles über Hüllenbildung bei Ciliaten.**

Bringt man *Colpidium colpoda* in bestimmte Lösungen verschiedener Farbstoffe (Trypaflavin, Neutralrot, Methylenblau, Cresylblau, Viktoriablau usw.), so scheiden die Tiere sofort Hüllen aus, die sich supravital (evtl. metachromatisch) färben und je nach den Versuchsbedingungen bald die Gestalt von becherartigen Hülsen, bald von Röhren, bald von allseitig geschlossenen Zysten besitzen. Diese Hüllen erinnern weitgehend an die Gehäuse, Röhren und Zysten, die andere Ciliaten in der freien Natur

1) Berl. klin. Wochenschr. 1906. S. 645.

bauen. Paramäcien scheiden auf die gleichen Farbstoffreize hin ihre Trichozysten aus.

Man kann aber auch mit zahlreichen anderen Stoffen bei den Colpidien (und anderen Ciliaten) Hüllenbildung hervorrufen; nur muß man, um die alsdann entstehenden farblosen Hüllen sichtbar zu machen, zu dem Medium, in dem die Tiere leben, Tuschelösungen zusetzen. Dabei ergab sich das überraschende Resultat, daß alle Stoffe, die man aus der Literatur über künstliche Parthenogenese als Erzeuger der sogenannten Befruchtungsmembran kennt, auch geeignet sind, die Colpidien zur Hüllenbildung zu veranlassen, also einmal zytolytisch wirkende Agentien wie Chloroform, Benzol, Toluol, Kreosot, Amylen usw., ferner gallensaure Salze, Serum usw., sodann die Fettsäuren und endlich Koagulationsmittel wie Silbersalze u. dgl. Ebenso ist Jod ein vortrefflicher Hüllenbildner. Auch nach plötzlicher Erwärmung auf 35° erzeugen die Colpidien Hüllen (entsprechend den Versuchen von Loeb und Lillie). Die Beobachtungen eröffnen ein weites Feld zu neuen Versuchen, in theoretischer Hinsicht führen sie zu mancherlei neuen Perspektiven.

Das Vorgetragene wird durch Lichtbilder erläutert, außerdem wird der Vorgang der Hüllenbildung durch lebende Colpidien mikroskopisch projiziert.

2. Tag. 9. September 1920 vormittags.

Vorsitzender: A. Gärtner (Jena).

II. Referat. R. Pfeiffer (Breslau):

### Influenza.

Meine Herren! Der Frühsommer des Jahres 1918 brachte uns als epidemiologische Ueberraschung einen neuen Ausbruch der pandemischen Form der Influenza, der offenbar von Spanien aus in kurzer Zeit nicht nur ganz Europa, sondern auch den amerikanischen Kontinent überschwemmte. Es war selbstverständlich, daß die Gelegenheit, mit den inzwischen so vielfach vervollkommenen Methoden der ätiologischen Forschung dem Rätsel der Influenza näher zu kommen, allseitig benutzt worden ist, ohne daß, wie ich hier gleich vorwegnehmen möchte, eine wesentliche Klärung dieser bedeutsamen Frage erreicht wurde. Ich danke Ihnen, daß Sie mir Gelegenheit geben, über dieses für mich so wichtige Gebiet in einem kurzen Referat Bericht zu erstatten, das leider, da die ausländische Literatur mir nur in beschränktem Maße zur Verfügung stand, keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit machen kann.

Der letzte Ausbruch der pandemischen Influenza in den Jahren 1889—92 hatte die Mehrzahl der Bakteriologen der Auffassung geneigt gefunden, den von mir 1891 entdeckten winzigen *Bacillus influenzae* als ätiologisches Agens zu betrachten. So war es selbstverständlich, daß beim Ausbruch der jetzigen Epidemie sofort von neuem die allgemeine Aufmerksamkeit sich diesem Bazillus zuwandte; anfangs mit auffällig wechselndem Ergebnis. Ich selbst fand schon bei den ersten von mir untersuchten Fällen sofort mikroskopisch und kulturell in einem hohen Prozentsatz, bei 4 von 5 Fällen, Influenzabazillen, und zwar in dem

Auswürfe der Kranken in einer Menge und Verteilung, wie sie mir von der früheren Epidemie noch in lebhafter Erinnerung geblieben waren. Unter meiner Leitung ist dann die ganze Epidemie in meinem Institut mit großem Fleiß bakteriologisch verfolgt worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind inzwischen durch Leichtentritt und Loewenhardt veröffentlicht worden und haben sichergestellt, daß in Breslau die Influenzabazillen doch in der überwiegenden Mehrzahl der klinischen Influenzafälle (60—75 Proz.) nachgewiesen werden konnten, oft in ungeheuren Massen, fast in Reinkulturen, in anderen Fällen, mit mannigfachen anderen Mikroorganismen gemischt: Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken, *Micrococcus catarrhalis*. Und zwar wurden diese Resultate nicht allein beim lebenden Menschen, sondern auch an dem uns zur Verfügung stehenden Sektionsmaterial gewonnen.

Ausschlaggebend ist die Methode der bakteriologischen Untersuchung. Wir wußten schon früher, daß die Influenzabazillen von ziemlich labiler Beschaffenheit sind. Auch jetzt ließ sich feststellen, daß alles darauf ankommt, die Objekte möglichst sofort nach der Entnahme in völlig frischem Zustande auf Platten zu bringen. Wie Loewenhardt zeigte, können Platten, welche direkt am Krankenbett angelegt wurden, bis zu 90 Proz. positive Influenzabazillenbefunde ergeben, während dasselbe Material schon 2—3 Std. später nur noch in etwa 30 Proz. positiv war, nach 24 Std. Aufbewahren sich völlig negativ verhielt.

Bei Sektionen waren die Influenzabazillenbefunde hauptsächlich in den frischen Läsionen positiv, eine Tatsache, die auch einer Reihe anderer Autoren (Hübschmann, Dietrich, Sobernheim, Olsen) in auffälliger Weise entgegengetreten war.

Was nun die Nährböden anbetrifft, so haben sich auch dieses Mal wieder meine Angaben über den streng hämoglobinophilen Charakter der Influenzabazillen bestätigt. Am besten bewährt sich uns immer noch der seinerzeit von mir beschriebene Taubenblutagar. Für viele Zwecke sehr brauchbar und nach manchen Hinsichten ein erheblicher Fortschritt ist der Levinthalsche Nährboden, der allerdings uns nicht immer ganz gleichmäßige Resultate ergeben hat. Vielleicht ist hier die Beobachtung von Olsen wichtig, wonach die Influenzabazillen Nährböden mit schwachem ( $1\frac{1}{2}$ —2 Proz.) Agargehalt bevorzugen und auf stärker prozentigem Agar schlecht oder gar nicht gedeihen.

Zu positiven Ergebnissen, die den von mir und meinen Mitarbeitern erhobenen durchaus entsprechen, kamen eine große Anzahl Bakteriologen von gewichtigem Namen, unter denen ich Neufeld, Uhlenhuth, Sobernheim, Levinthal, Hübschmann nennen möchte. Um so auffälliger sind die beinahe völlig negativen Resultate, die z. B. in München von Mandelbaum, in Hamburg von Schottmüller und Grätz und auch in Berlin von verschiedenen Autoren mitgeteilt wurden. Woran das liegt, läßt sich schwer sagen. Es scheint, als ob Fehler in der Untersuchungstechnik hier eine Rolle gespielt haben. Sonst sind die kontradiktorisch entgegengesetzten Ergebnisse, wie sie in derselben Stadt zur selben Zeit, also unter voraussichtlich identischen Bedingungen z. B. in Hamburg einerseits von Olsen, andererseits von Schottmüller mitgeteilt worden sind, kaum verständlich. Was die Ansicht von Mandelbaum anbetrifft, daß seine negativen Ergebnisse darauf zu beziehen seien, daß die Influenzabazillen nicht die primäre Ursache der Influenza darstellen, sondern als sekundäre Infektionserreger aufzufassen sind, die deswegen stellenweise fehlen können und die beson-

ders im Beginn der Epidemie tatsächlich an vielen Orten gefehlt hätten, so möchte ich dagegen anführen, daß, wie schon oben erwähnt, die Influenzabazillen von mir und anderen Autoren sofort in den ersten Fällen nachgewiesen werden konnten, und daß das gleiche Ergebnis nicht allein in Deutschland, sondern auch im Auslande in ähnlicher Weise eruiert wurde. Die Influenzabazillen fanden sich in sehr hohem Prozentverhältnis der untersuchten Fälle in Spanien, in der Schweiz, in Frankreich, in England und Südamerika, also über den größten Teil des Erdballes, überall dort, wohin die Seuche verschleppt wurde, ausgestreut, eine Tatsache, die nicht gut in dem Mandelbaumschen Sinne zu deuten ist.

In bezug auf die Morphologie und Biologie der Influenzabazillen hat die jetzige Epidemie wenig Neues zutage gefördert, was über die von mir vor 30 Jahren publizierten Befunde hinausgeht. Ganz besonders bemerkenswert und bisher noch nicht genügend hervorgehoben ist die enorme Schnelligkeit des Wachstums der Influenzabazillen auf für sie geeigneten Nährsubstraten. Diese winzig feinen Bazillen bilden hier schon in 16–18 Std. die bekannten glashellen Kolonien, welche dann, wenn sie gut isoliert sind, schon bis fast zu Stecknadelkopfgröße herangewachsen sind, während die Kolonien mit ihnen zusammen vorkommender, an sich viel größerer Bakterien, wie z. B. der Streptokokken, in diesem Zeitpunkt in der Regel noch in ihrer Größe hinter denen der Influenzabazillen deutlich zurückbleiben. Die Kolonien der Influenzabazillen pflegen dann in der Regel nicht weiter zu wachsen, wohl deshalb, weil der Nährboden durch diese anspruchsvollen Mikroorganismen lokal erschöpft ist. Immerhin dürfte diese enorme Wachstumsenergie für denjenigen, der in meinen Bazillen die Ursache der Influenza erblickt, ein Erklärungsgrund für die Kürze der Inkubation dieser Seuche und für das oft beinahe blitzähnlich schnelle Einsetzen der Krankheiterscheinungen bieten. Die schon mehrfach betonte Labilität der Influenzabazillen macht sich auch auf künstlichen Nährböden dadurch bemerkbar, daß die Abimpfung der Kolonien so häufig schon am zweiten Tage ergebnislos ist, daß also dann diese zarten Mikroben schon abgestorben sind.

Ferner möchte ich betonen, daß auch dieses Mal, und zwar hauptsächlich beim Abflauen des Grippeausbruches, der im Februar und März 1920 in Breslau eintrat, atypische Stämme hämoglobinophiler Bakterien gezüchtet werden konnten, welche dem seinerzeit von mir beschriebenen Pseudoinfluenzabazillus morphologisch ähnlich waren und die sich vielfach, wenn auch nicht in allen Fällen, sich durch Fortzüchtung auf geeigneten Nährböden in typische Influenzabazillen überführen ließen.

Diese Pseudoinfluenzastämme sind höchstwahrscheinlich abnorme Wuchsformen der echten typischen Influenzabazillen, obwohl der Beweis für diese Annahme noch nicht ganz einwandfrei geführt werden konnte. Die zur Identifizierung der abweichenden Stämme anderer Bakterienarten sonst mit bestem Erfolg benutzten serodiagnostischen Methoden, die Agglutination und die Komplementablenkung, sind hier nur mit großer Reserve brauchbar. Ich möchte mich daher in der Frage der Pseudoinfluenzabazillen noch nicht endgültig festlegen. An sich wäre es keineswegs wunderbar, wenn auch bei den hämoglobinophilen Bakterien eine Art von Gruppenbildung nahe verwandter Arten vorhanden wäre, wie dies in so typischer Weise bei den Typhaceen der Fall ist.

Influenzabazillen wurden gefunden wesentlich im Auswurf der Kranken, in den Ausstrichen der Rachenschleimhaut, bei Sektionen auf der Schleim-



haut der Bronchien von der Trachea bis zu den kleinsten Bronchiolen hinab, ferner in bronchopneumonischen Herden der Lunge.

Die histologischen Untersuchungen der Respirationsschleimhäute und des Lungengewebes, wie sie in sorgfältiger Weise z. B. von Herzog, Dietrich, Hübschmann und Olsen ausgeführt worden sind, haben meine Beschreibungen aus dem Jahre 1891 wesentlich bestätigt und kaum etwas Neues dem von mir gezeichneten pathologisch-anatomischen Bilde hinzugefügt. Das Blut war in der Regel steril, ganz vereinzelte Befunde abgerechnet; dagegen wurden öfters Influenzabazillen aus der Milz und aus dem Gehirn in Kultur gewonnen. Das seröse oder eitrige Pleuraexsudat enthielt in der Regel Eitererreger anderer Art, doch sind Fälle berichtet, in denen die Influenzabazillen in Reinkultur auch in diesen Ergüssen nachgewiesen werden konnten. Als Ausnahmen sind zu betrachten die Fälle von Basalmeningitis (Oeller und Hübschmann) und ein Fall von Endocarditis (Dietrich), in denen Influenzabazillen in Reinkultur gefunden wurden. Einer dieser Meningitisfälle war kompliziert durch einen Lippen- und Zungenherpes, in dessen Blasen Influenzabazillen gefunden wurden.

Es ist hier der Ort, ein paar Worte der Encephalitis lethargica zu widmen. Es spricht vieles dafür, daß diese seltsame Gehirnaffektion, die auch bei der Grippeepidemie der Jahre 1889—92 als Nona beschrieben ist, nicht eine Erkrankung sui generis darstellt, sondern als eine Folgeerscheinung des Influenzaprozesses aufzufassen ist. Fraglich ist nur, ob es sich um Lokalisationen der Erreger im Gehirn handelt, oder um Giftwirkungen, die von den an anderen Stellen des Körpers angesiedelten Mikroben ausgehen und auf eine besondere Affinität gewisser nervöser Zentren diesen Toxinen gegenüber hinweisen. Daß auch bei der Encephalitis lethargica Influenzabazillen eine Rolle spielen, geht aus den nicht mehr seltenen Fällen hervor, wo es bei der Sektion frischer Fälle gelungen ist, diese Bazillen in der Milz kulturell nachzuweisen, oder auch, wie in dem Manteufelschen Falle, in großen Mengen ja geradezu in Reinkultur im Sekret der Luftröhre. Auch im enzephalitischen Gehirn sind sie mehrfach gefunden worden, so schon während der Epidemie 1891/92 durch Pfuhl und Nauwerk. Immerhin handelt es sich hier um relativ seltene Vorkommnisse.

Beachtung verdient daher die Angabe Wiesners, der den von ihm beschriebenen *Streptococcus pleomorphus* in enzephalitischen Herden durch Uebertragung von Gehirnpartikelchen auf Affen und nachfolgende Kultur aus dem Gehirn seiner an der Infektion eingegangenen Versuchstiere nachweisen konnte, und dem es anscheinend auch gelungen ist, mit Reinkulturen bei Affen und Kaninchen enzephalitisähnliche Krankheitsläsionen zu reproduzieren. In demselben Sinne verwertbar ist eine eben erschienene Mitteilung Reicherts, der in acht Fällen typischer Enzephalitis durch eine besondere Kulturmethodik regelmäßig den Wiesnerschen Mikroorganismus zu isolieren vermochte.

Die Encephalitis letargica würde demnach nicht der Grippe selbst zur Last fallen, sondern als eine Sekundäraffektion nach Grippe aufzufassen sein.

Die Angaben über ein filtrierbares Virus oder über protozoische Gebilde als Ursache der Encephalitis sind als noch nicht genügend gestützt zunächst von der Hand zu weisen.

Wichtig ist, daß auch in dieser Epidemie zahlreiche Fälle von subakuter und sogar chronischer Form der Influenza nachgewiesen wurden

von Hillebrandt, Leichtentritt u. a., dem entsprechend, was ich schon bei der ersten Epidemie ermittelt hatte. Bei diesen chronischen Influenzaformen, die klinisch sehr leicht mit Lungentuberkulose verwechselt werden können, kommt es dann eventuell zu dauernden Veränderungen des Lungengewebes, vor allen Dingen auch zur Bronchiektasienbildung.

Welche Schlüsse können wir nun aus den hier kurz dargestellten Ergebnissen in bezug auf die ätiologische Rolle der Influenzabazillen für die pandemische Form der Influenza ziehen? So viel steht von vornherein fest, von allen den Mikroorganismen aus der Gruppe der Bakterien, welche bei der Influenza gefunden und beschrieben worden sind, können nur die Influenzabazillen ernsthaft als Erreger in Frage kommen. Wenn auch vereinzelte Autoren von ihnen gesehene und gezüchtete Bakterien anderer Art mit der Influenza in ätiologische Beziehung setzen wollten, so sind derartige Versuche schon deshalb abzuweisen, weil Bestätigungen dieser Angaben von zuverlässigen Bakteriologen fehlen und weil die betreffenden Spezies meist sehr unbestimmt charakterisiert sind.

Wenn wir einen Mikroorganismus als den Erreger einer bestimmten Krankheit ansprechen wollen, so müssen die bekannten Postulate Kochs erfüllt sein. Das Mikrobion muß zunächst konstant und möglichst ausschließlich bei dem betreffenden Infektionsprozeß vorhanden sein in einer Ausbreitung und Lokalisation, welche die Krankheitserscheinungen erklärt, und es muß gelingen, mit seinen Reinkulturen die Krankheit zu reproduzieren. Sind diese Postulate für den *Bac. influenzae* erfüllt? Ihr Vorkommen bei typischen Influenzafällen ist auch in dieser Epidemie, wie schon dargelegt, in einem sehr hohen Prozentsatz der untersuchten Fälle sichergestellt, allerdings nicht in allen Fällen. Aber das ist kein Gegenbeweis, da es auch bei anderen Krankheitsprozessen, bei denen die bakterielle Ursache völlig geklärt ist, wie beispielsweise beim Typhus, keineswegs ausnahmslos gelingt, die Erreger in dem Kranken und seinen Ausscheidungen nachzuweisen. Es sind hier vielfach große Schwierigkeiten in der Natur der Sache selbst begründet. Die Stellen der Ansiedlung der Krankheitserreger sind uns nicht immer zugänglich; auch ist die Ausscheidung der Erreger oft genug von so kurzer Dauer, daß es ein Glückszufall ist, ihrer habhaft zu werden. Ist deshalb die bakteriologische Diagnose selbst bei so resistenten Bakterien, wie die Typhusbazillen, oft negativ, so werden wir in der Beurteilung negativer Untersuchungsergebnisse bei den so labilen Influenzabazillen doppelt vorsichtig sein müssen. Immerhin sprechen die 91 Proz. positiver Befunde, die Loewenhardt in direkt am Krankenbett ausgestrichenen Blutagarplatten konstatierte, doch in sehr beredter Weise für den engen Zusammenhang der Influenzabazillen mit dem Influenzaprozeß. Nun hat man gegen die von mir vertretene Auffassung den Einwand erhoben, die Influenzabazillen kämen nicht allein bei der Grippe vor, sondern auch bei allen möglichen anderen Krankheiten und zwar, mit großer und auffälliger Regelmäßigkeit, z. B. bei Masern und bei Keuchhusten. Ja, es hat nicht an Stimmen gefehlt, welche diese Mikroben beinahe als ubiquitär betrachten wollten, in ähnlicher Weise, wie dies tatsächlich z. B. für die Pneumokokken nachgewiesen ist. Wäre das der Fall, so müßte dies natürlich als ein erheblicher Einwand gegen die Bedeutung der Influenzabazillen als der primären Erreger bei der pandemischen Influenza gelten, und es läge dann nahe, ihnen eine sekundäre Rolle als häufig, unter Umständen regelmäßig vorkommende Mischinfektions-

erreger zuzusprechen. Wie verhalten sich die Dinge nun tatsächlich? Ich selbst habe schon bei der Epidemie der 90er Jahre des vorigen Jahrhunderts darauf hingewiesen, daß außer bei Grippe auch noch bei Masern-Brochopneumonien und in den Kavernen Tuberkulöser Influenzabazillen recht häufig zu finden sind und oft bei chronisch Lungenkranken längere Zeit auch nach dem Erlöschen der eigentlichen Epidemie persistieren. Ich hatte damals diese Befunde nicht als Gegengrund gegen ihre ätiologische Bedeutung betrachtet, sondern im Gegenteil in ihnen die durchaus notwendigen Zwischenglieder, welche die durch Jahrzehnte getrennten großen Seuchenzüge verbinden, erblickt. Bei den Influenzabazillen, die durch ihr ganzes biologisches Verhalten als streng an die Bedingungen des menschlichen Körpers angepaßte Mikroorganismen erscheinen, ist eine längere Konservierung in der Außenwelt undenkbar, besonders da Dauerformen durchaus fehlen. Auch ein Fortleben in chronisch kranken Tieren, wie dies für die Pestbakterien nachgewiesen ist, dürfte in unserem Falle ausgeschlossen sein, da wir noch keine Tierart kennen, welche eine ähnliche Empfänglichkeit für die Influenzabazillen besitzt wie die Spezies Mensch. Sind also meine Bazillen die Ursache der Influenza, so muß es chronische Fälle geben, in denen sich der Krankheitsstoff von Epidemie zu Epidemie gewissermaßen hinüberrettet. Nichts spricht dagegen, daß etwas Derartiges auch bei uns in Europa stattfinden kann. Von diesem Standpunkte aus sind also diese Argumente meiner Gegner für mich von geringer Bedeutung, und ich freue mich, daß Neufeld z. B. sich kürzlich in ganz ähnlichem Sinne ausgesprochen hat. Haben doch die neueren epidemiologischen Untersuchungen bei den verschiedensten Infektionsprozessen verwandte Verhältnisse aufgedeckt. Ich erinnere nur an die ausschlaggebende Bedeutung der Bazillenträger bei Diphtherie, Cerebrospinalmeningitis, bei Typhus und Paratyphus. Immerhin habe ich stets die Ansicht verfochten, daß in Wirklichkeit von der kolossalen Aussaat der Influenzabazillen, die während des Herrschens einer Influenzaepidemie eintreten muß, doch der überwiegend größte Teil zugrunde geht, so daß die Zahl der Bazillenträger längere Zeit nach dem Erlöschen der Seuche nicht allzugroß zu schätzen sein dürfte, daß also eine ubiquitäre Verbreitung keineswegs wahrscheinlich ist. Ueber diese Verhältnisse können nur geduldig fortgesetzte Untersuchungen an Kranken aller Art und auch an Gesunden Aufschluß geben, wie sie zum ersten Male in mustergültiger Weise von Scheller in Königsberg in den Jahren 1906—08 vorgenommen worden sind. Scheller fand, daß die Influenzabazillen, welche während des Herrschens des Grippeausbruches bei Influenzakranken fast regelmäßig, aber auch bei an anderen Krankheiten Leidenden und selbst bei Gesunden verhältnismäßig häufig gefunden wurden, beim Abflauen der Epidemie immer spärlicher nachzuweisen waren und schließlich  $\frac{1}{2}$  Jahr nach dem definitiven Erlöschen der Seuche so gut wie vollständig verschwunden waren, was meinen theoretischen Erörterungen durchaus entspricht. Auch in anderen Städten waren vor dem Ausbruch der jetzigen Epidemie die Influenzabazillen, wie es scheint, beinahe vollkommen verschwunden: so gibt Selter an, vom Jahre 1904 ab die Influenzabazillen in Bonn nicht mehr gefunden zu haben; und Neufeld berichtet, daß im Institut für Infektionskrankheiten seit 1912, besonders auch bei Tuberkulösen, auf Influenzabazillen gefahndet worden wäre ohne einen einzigen typischen

Auch bei der letzten Epidemie habe ich in meinem Institut auf diese Dinge geachtet. Ich verweise auf die Beobachtungen Loewenhardt's, der Grippeputa in 76 Proz. positiv fand, während bei Tuberkulösen nur 10,5 Proz. der Sputa Influenzabazillen enthielten, Auswurf von sonstigen Erkrankungen der Atmungsorgane sogar nur in 3,6 Proz. Dabei ergab sich für Breslau ein mit dem Abflauen der jetzigen Epidemie annähernd parallel laufender Rückgang der positiven Influenzabazillenbefunde bei nicht Grippekranken; während im Juni/Dezember 1918 25,4 Proz. positiv waren, sank in der Zeit vom Januar—März 1919 diese Zahl auf 16 Proz., im Laufe des Dez. 1919 auf 7,4 Proz. und im Jan.—März 1920 auf 5 Proz., also auch hier Resultate, die den früher von Scheller erhobenen wesentlich entsprechen.

Auch über das Vorkommen der Influenzabazillen bei Masern habe ich durch Preuss Untersuchungen anstellen lassen und zwar im Sommer dieses Jahres, wo die Exacerbation der Influenzaepidemie der Monate Februar und März beinahe völlig abgeflaut war. Im ganzen wurden 34 Masernfälle untersucht: 10 in der Universitätskinderklinik und 24 im Wenzel-Hanke-Krankenhaus durch Ausstriche des Rachensekretes auf Blutagarplatten direkt am Krankenbett. Bei den 24 Fällen des Wenzel-Hanke-Krankenhauses wurden Influenzabazillen überhaupt nicht gefunden, unter den 10 Fällen der Kinderklinik hingegen 3mal. Es verdient aber hervorgehoben zu werden, daß auf der Kinderklinik zur Zeit der Untersuchung subakute und chronische Influenzafälle vorhanden waren, von denen die Uebertragungen auf die Masernfälle ausgegangen sein können. Jedenfalls sprechen diese mit allen Kautelen angestellten Untersuchungen nicht für ein regelmäßiges Auftreten der Influenzabazillen bei Masern, wie dies Seligmann und Schottmüller anzunehmen scheinen. Ähnlich liegen die Dinge auch bei Diphtherie. Ueber Scharlach und Keuchhusten fehlen mir eigene Beobachtungen. Bei Keuchhusten speziell ist mit einer Verwechselung der Influenzabazillen mit dem Bordetschen Bazillus zu rechnen, so daß die Angaben über positive Befunde bei dieser Krankheit mit einer gewissen Reserve betrachtet werden müssen.

Besonders wichtig sind die Untersuchungen gesunder Personen auf die Anwesenheit von Influenzabazillen in ihren Respirationsorganen. Von 62 durch Loewenhardt mit allen Kautelen untersuchten, gesunden Leuten konnten nur bei zweien durch Rachenabstriche Influenzabazillen kulturell festgestellt werden; diese beiden hatten in intimum Kontakt mit Influenzakranken gestanden und erkrankten beide am Tage nach der Probeentnahme selbst an Grippe. Auch Uhlenhuth berichtet, daß er 100 Gesunde mit stets völlig negativem Ergebnis auf Influenzabazillen untersucht habe. Danach kann von einer Ubiquität der Influenzabazillen nicht gut die Rede sein. Es handelt sich bei ihnen also nicht um regelmäßig oder auch nur häufiger vorkommende saprophytische Mikroorganismen, die auf den Respirationsschleimhäuten schmarotzen, und wie Seligmann meint, als Nosakoluthen bei gewissen Infektionskrankheiten auf diesen Schleimhäuten gewissermaßen angereichert werden, sondern das Verhältnis der Influenzabazillen zur Influenza muß viel inniger sein und findet seine Erklärung am einfachsten durch die von mir vertretene Auffassung, daß es sich hier eben um die Infektionserreger selbst handelt. Ich komme auf diese Frage noch einmal zurück.

Noch wichtiger und die ganze Frage abschließend wäre die Erfül-

lung der weiteren Kochschen Forderung, daß es möglich sein muß, mit den rein gezüchteten Erregern die Krankheit einwandfrei zu reproduzieren. Ueber Versuche am Menschen mit Reinkulturen ist wenig bekannt. Ich selbst habe mich bei der Malignität vieler Influenzafälle aus begreiflichen Gründen gescheut, derartig verantwortungsvolle Experimente am Menschen anzustellen. Negative Ergebnisse solcher Uebertragungsversuche würden an sich wenig beweisen, da wohl nicht jeder Mensch für die Influenza hochgradig empfänglich ist und da auch eine rasch eintretende Abschwächung der Virulenz bei rein gezüchteten Kulturen stets berücksichtigt werden muß. Aber auch scheinbar positive Uebertragungen beweisen während der Dauer einer Epidemie nicht allzu viel, da bei der enormen Verbreitung der Erreger in der Bevölkerung Spontanerkrankungen durch Infektion von Mensch zu Mensch schwer auszuschließen sind. Mir ist nur ein Fall bekannt, wo diese Einwände mit ziemlicher Sicherheit zurückgewiesen werden dürfen. Es handelt sich um den bekannten Fall des Pathologen Kretz, dem in influenzafreier Zeit ein Reagenzglas mit Reinkulturen der Influenzabazillen in der Hand zerbrach und der am Tage darauf an einer typischen und schwer verlaufenden Form der Influenza erkrankte. Ich möchte betonen, daß auch bei der Cholera die Uebertragungsversuche mit Reinkulturen beim Menschen zu größtenteils negativen Ergebnissen geführt haben und daß meines Wissens nur ein einziger Fall von schwerer, tödlich verlaufender Cholera bei dem Dr. Oergel im Hamburger Hygienischen Institut beim Arbeiten mit Reinkulturen von Choleravibrionen in epidemiefreier Zeit bekannt geworden ist, ohne daß daraus ein Einwand gegen die ätiologische Bedeutung der Kochschen Vibrionen herzuleiten wäre.

Wie steht es mit Tierversuchen? Ich hatte im Jahre 1892 ermittelt, daß von den mir zur Verfügung stehenden Tierspezies nur Affen eine deutliche Empfänglichkeit für die Influenza zeigten. Ich arbeitete mit *Macacus Rhesus*. Ein bis dahin gesunder Affe, dem ich eine Oese frisch gezüchteter Influenzabazillen-Reinkultur vorsichtig ohne Verletzung der Schleimhaut mit einem dicken Platindraht in die Nasenhöhle einführte, bekam noch an demselben Abend Fieber, das 4—5 Tage andauerte und am 3. Tage seine Höhe mit 39,9 erreichte. Drei weitere Affen erhielten je 0,5 ccm einer Influenzabazillen-Aufschwemmung in Bouillon intrapulmonal eingespritzt. Auch hier stellte sich 20—30 Std. später Fieber von remittierendem Typus und 3—5-tägiger Dauer ein. Ein weiterer Affe erhielt drei, in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmte Agar-röhrchen Influenzabazillenkultur intratracheal und starb 28 Std. darauf mit subnormaler Temperatur in tiefster Prostration, wahrscheinlich mehr infolge der Endotoxinwirkung. Daß die Influenzabazillen sehr wirksame Endotoxine enthalten, wurde von mir in Kaninchenversuchen dargelegt.

Versuche an Affen sind dann in neuerer Zeit in Amerika von Blake und Cecil in größerem Umfang angestellt worden und haben zu Ergebnissen geführt, die für die ätiologische Bedeutung der Influenzabazillen doch von wesentlicher Bedeutung werden dürften. Die Autoren benutzten eine Influenzabazillenkultur, die aus einer Influenzapneumonie eines Kindes stammte und dann 6 Wochen auf Blutagar fortgezüchtet worden war. B. und C. machten dann mit dieser Kultur Passagen durch 11 weiße Mäuse und 13 Affen. Die Kulturen wurden intraperitoneal injiziert in so hohen Dosen, daß die Versuchstiere in 24—48 Std. starben. Mit dieser so für Affen angezüchteten Kultur wurden 12 Affen (*Macacus syrichtus* und *Cebus capucinus*) infiziert, indem die Reinkulturen

mit Hilfe eines infizierten Baumwolltupfers in die Nasenlöcher und den Mund eingeführt wurden.

Beginn der Erkrankung 3—6 Std. nach der Infektion: Prostration, in einigen Fällen Fieber, bis zu 40 und sogar 41° steigend. Es trat Niesen, Augenblinzeln, Nasenreiben ein, im weiteren Verfolg eine 3 bis 4 Tage dauernde Tracheitis mit Auswurf von schleimig-eitrigem Sekret, das in der Regel Influenzabazillen enthielt, die aber manchmal auch fehlen konnten, ganz wie beim Menschen. Als Komplikation bekamen 5 der infizierten Tiere eine eitrige Entzündung der Highmorshöhle, zwei der Versuchsaffen erkrankten an Pneumonie, 9 der geimpften Tiere wurden getötet. Bei den 5 Fällen von Rhinitis mit Nebenhöhleneiterung fanden sich Influenzabazillen in Reinkulturen oder auch gemischt mit anderen Bakterien. 6 Fälle wiesen Tracheitis und Bronchitis auf (alle Fälle zeigten in Trachea und Bronchien Influenzabazillen, und zwar 2mal in Reinkultur und 4mal gemischt mit Staphylo-, Streptokokken und gram-negativen Mikrokokken). Zweimal fand sich ziemlich ausgedehnte Bronchopneumonie mit hämorrhagischen peribronchialen Exsudaten von Leukozyten, mononukleären Zellen und desquamierten Alveolarepithelien mit Reinkulturen von Influenzabazillen.

Bei 10 weiteren Affen wurden 1—5 ccm von Kulturaufschwemmung oder auch Peritonealexsudat von Passageaffen stammend intratracheal injiziert. 7 davon erkrankten an Bronchopneumonie, 2 Affen nur mit Tracheobronchitis, 1 Affe blieb gesund. Als Symptome wurden Prostration, Husten, Fieber, beschleunigte Atmung, 2mal Koryza und Niesen beobachtet. 3 während der Krankheit getötete Affen enthielten in den Lungen Influenzabazillen in Reinkulturen, bei 4 während der Rekonvaleszenz getöteten Affen blieben die angelegten Kulturen steril. Die Zahl dieser Versuche ist so bedeutend, ihr Ergebnis so eindeutig und erinnert in so hohem Grade an die menschliche Influenza, daß ich ihnen für die ätiologische Bedeutung meiner Bazillen für die pandemische Grippe einen hohen Wert beimessen möchte. Leider sind wir in Deutschland nicht in der Lage, uns selbst an der Kontrolle und dem weiteren Ausbau dieser so wichtigen Affenexperimente zu beteiligen.

Seit der Entdeckung der Influenzabazillen hat uns die Immunitätsforschung neue, damals noch ungeahnte Möglichkeiten in die Hand gegeben, um die Erregernatur eines Mikroorganismus festzustellen. Es sind dies die spezifischen serologischen Reaktionen, insbesondere die Agglutination. Leider sind bei der Influenza gerade auf diesem Gebiet große Schwierigkeiten zu überwinden. Immerhin steht so viel fest, daß in einem nicht unbeträchtlichen Prozentverhältnis in dem Serum von Influenzarekonvaleszenten Influenzaagglutinine aufzufinden sind, wie dies von Levinthal, Sobernheim, Neufeld und Papamarku, Fromme, Fürst und Bieling festgestellt worden ist. Ich möchte hier insbesondere die ausgedehnten Untersuchungen Bielings hervorheben, der ermitteln konnte, daß die verschiedenen von ihm gezüchteten Influenzastämme sich agglutinatorisch recht different verhielten, und daß für die praktische Verwendung der Agglutination zur Diagnose der Influenza alles darauf anzukommen scheint, daß für diesen Zweck besonders geeignete polyvalente Influenzastämme ausgesucht werden.

Jedenfalls befinden sich die Forschungen über die Verwertung der Agglutination besonders für die Diagnose der Seuche noch in ihrem Anfangsstadium.

Aehnlich liegt es auch mit den Versuchen, eine aktive Immunisierung gegen Influenza künstlich zu erzeugen. Jedenfalls hinterläßt das Ueberstehen der Grippe nur einen geringen und offenbar kurz dauernden aktiven Schutz, was durch die nicht seltenen Fälle von Grippe-rezidiven und wiederholten Erkrankungen im Laufe derselben Epidemie bewiesen wird. An sich ist deshalb von vornherein die Hoffnung, durch Vakzination einen nach Dauer und Intensität ausreichenden aktiven Schutz hervorzurufen, nicht allzu groß. Als Vakzine wurden vorgeschlagen meist Gemische abgetöteter Influenzabazillen mit Pneumo- und Streptokokken. Die statistischen Unterlagen zur Beurteilung des Wertes der Impfungen sind noch zu unsicher, um beweisende Schlüsse zu gestatten.

Wenn wir alles bisher Gesagte zusammenfassen, so scheint mir der Schluß unabweisbar, daß die Influenzabazillen in einem festen Verhältnis zur Ausbreitung der pandemischen Influenzaseuche stehen. Sie kommen mit großer Regelmäßigkeit bei frischen Influenzafällen vor, und zwar werden sie in einem um so größeren Prozentverhältnis gefunden, je genauer man untersucht, und je mehr man den biologischen Eigentümlichkeiten dieser zarten Organismen gerecht wird. Sie finden sich sehr oft in geradezu enormen Massen, vielfach direkt in Reinkulturen. Bei Sektionen sind sie gerade in den frischesten Veränderungen vorhanden, so daß eine ganze Zahl von Untersuchern sie direkt als die Schrittmacher für die sekundäre Infektion bezeichnen. Außerhalb der Epidemiezeiten treten sie mehr und mehr zurück bis zum fast vollständigen Verschwinden; bei anderen Krankheitsprozessen der Respirationsorgane werden sie hauptsächlich dann angetroffen, wenn noch vorhandene Influenzafälle Gelegenheit zu sekundärer Infektion mit Influenzabazillen darbieten. Sie fehlen bei diesen Krankheiten, wenn nach dem Erlöschen der Influenzaepidemie die Wahrscheinlichkeit derartiger sekundärer Uebertragungen von Influenzabazillen gering wird. Rechnet man noch die Uebertragungsversuche bei Affen hinzu, so scheint mir die Annahme, daß wir in den Influenzabazillen das eigentliche Agens der Influenza zu sehen haben, sehr naheliegend. Nur eine Schwierigkeit ergibt sich, die aber nicht allein für den Influenzabazillus als Erreger der Influenza Geltung hat, sondern ebenso auch für jeden anderen Organismus, der als Ursache dieser Seuche hingestellt werden konnte. Man hat früher direkt abenteuerliche Vorstellungen über das Wesen der Influenza gehabt, so sollte diese Seuche in Pausen von 3—4 Jahrzehnten wie ein Sturmwind über die gesamte bewohnte Erde hinwegbrausen, um dann ebenso rasch, wie sie gekommen, wieder für lange Zeit vollständig zu verschwinden. Das wäre nach unseren bei sonstigen Seuchen gewonnenen Kenntnissen nur schwer verständlich. Aber diese in den Köpfen der Laien und auch der Aerzte weitverbreitete Vorstellung ist wohl sicher nicht richtig. Die großen Epidemien haben offenbar Vorläufer und Nachzügler, welche die Verbindung zwischen den Hauptinfluenzazügen darstellen. Sind die Influenzabazillen wirklich die Ursache der pandemischen Grippe, so ist das hier Supponierte schon als tatsächlich nachgewiesen anzusehen. Zu diesen Zwischengliedern gehört dann die von Scheller beschriebene Influenzaepidemie der Jahre 1906/07 in Königsberg, die Epidemie des Jahres 1914, die in Leipzig durch Hübschmann sorgfältig verfolgt worden ist, die im Jahre 1916 durch Levinthal an der Front konstatierte und andere mehr. Es wird dadurch die Brücke geschlagen für den nur fälschlich unvermittelt erscheinenden Ausbruch der Influenza, der im Frühjahr 1918 die



wissenschaftliche Welt überraschte. Es ist auch nicht richtig, daß die Influenza mit einem Schlage verschwindet, sondern wir haben auch dieses Mal ganz ähnlich wie in den Jahren von 1889 ab eine ganze Reihe von Exazerbationen und Senkungen der Epidemiekurve feststellen können, die jetzt schon 2 volle Jahre bakteriologisch verfolgt werden konnten und wahrscheinlich auch noch längere Zeit nachweisbar sein werden. Das epidemiologische Verhalten der Influenza wird unserem Verständnis zugänglich, wenn wir annehmen, daß die Erreger, obwohl sie dauernd in einem Zustand der Latenz vorhanden sind, plötzlich eine ganz besonders günstige Verbreitungsmöglichkeit vorfinden, die durch Erhöhung ihrer Virulenz oder auch durch das allmählich eintretende Verschwinden der durch vorhergehende Epidemien erzeugten Immunität bei den Menschen erklärt werden könnte. Wie eine solche Virulenzsteigerung zustande kommt, ist allerdings eine noch ganz ungeklärte Frage, die aber ebenso auch bei anderen Seuchen aufgeworfen werden kann und ebensowenig nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse in zufriedenstellender Weise zu beantworten ist. Wir müssen uns zunächst bescheiden und es unseren Nachkommen überlassen, diese letzten Rätsel der Epidemiologie zu lösen.

Die bakteriologischen Entdeckungen der letzten beiden Jahrzehnte, welche für eine ganze Reihe wichtiger menschlicher Infektionskrankheiten als Ursache Mikroorganismen ganz besonderer Art nachgewiesen haben, die wegen ihrer winzigen Größe bakteriendichte Filter passieren können und deswegen als filtrierbare Virusarten bezeichnet werden, gaben mit Recht Veranlassung, auch bei der Influenza die Möglichkeit eines filtrierbaren Virus experimentell zu prüfen. Tatsächlich liegen eine ganze Reihe von Angaben vor, welche für die Existenz eines solchen filtrierbaren Virus bei der Influenza eintreten. Ich nenne: Selter, Dujarric de la Rivière, Nicolle und Lebailly, Angerer, Leschke, Binder und Prell, Bradford, Bashford, Wilson, Gibson, Bowman, Connor.

Die meisten Autoren, die hier in Betracht kamen, haben, wie ja außerordentlich nahe lag, Filtrate von Grippeputis zu ihren Infektionsversuchen am Menschen benutzt. So berichten Nicolle und Lebailly, sie hätten durch subkutane Impfung des bakterienfrei filtrierten Influenzaauswurfes bei 2 Versuchsmenschen die Grippe erzeugt, während 2 andere Menschen nach intravenöser Injektion dieses Materials gesund blieben. Intravenöse Einspritzungen von Blut eines Grippekranken blieben erfolglos. Im Gegensatz hierzu behauptet Dujarric de la Rivière durch subkutane Einspritzung von filtriertem Blut eines schwer an Grippe Erkrankten nach 3—4 Tagen eintretende leichte Grippeerscheinungen hervorgerufen zu haben. Leschke berichtet, daß es ihm nach zahlreichen negativen Versuchen im September 1918 gelungen sei, mit einem aus einer Influenzapneumonie gewonnenen Lungensaftfiltrat, das nach mehrtägiger Bebrütung in fein zerstäubtem Zustande einige Minuten lang inhaliert worden war, drei typische Fälle von Influenza zu erzeugen, von denen dann sekundäre Uebertragungen auf 2 mit der Krankenpflege beschäftigte Personen ausgingen.

Wenn auch die wissenschaftliche Autorität eines Autors wie Nicolle bedeutend ist, so ist doch die Gesamtzahl der von ihm beschriebenen positiven Uebertragungen sehr gering; und das gilt auch für die anderen eben erwähnten Autoren. Es sind hierbei ferner stets gewichtige Einwände zu berücksichtigen. Zunächst muß unter allen



Umständen damit gerechnet werden, daß in Epidemiezeiten bei einer Seuche, die so weit verbreitet ist wie die Influenza, Spontaninfektionen die Versuche am Menschen fälschen können. Diese Möglichkeit liegt besonders nahe für die Fälle, über die Leschke berichtet. Dann ist aber zu bedenken, daß die Influenzabazillen so außerordentlich klein sind, daß ihr Durchtreten durch die für die übrigen Bakterien undurchgängigen Filter mit einer gewissen Leichtigkeit zustande kommen kann. Dieser Einwurf ist doppelt beachtenswert, nachdem ich mich mit Prausnitz davon überzeugt habe, daß die Influenzabazillen im Körper Formen annehmen können, welche sie als kleinste eben noch mikroskopisch sichtbare Körnchen erscheinen lassen.

Den eben berichteten positiven Uebertragungsversuchen mit Filtraten stehen nun auch negative Ergebnisse in erheblicher Zahl gegenüber. Besonders bedeutungsvoll erscheinen mir die Versuche von Friedberger und Konitzer, da sie an 26 Versuchsmenschen angestellt worden sind. Alle diese Personen wurden der intensiven Inhalation fein verstäubten Filtrates von Influenzasputum und dem Gewebssaft von Influenzapneumonien in bis zu 5mal wiederholten Versuchen ausgesetzt, ohne daß auch nur eine einzige Erkrankung irgendwelcher Art resultierte. Gleichfalls negativ waren ähnliche Versuche Kruses. In Amerika zeigte Keegan, daß Filtrate von Influenza-, Nasen- und Bronchialschleim bei 9 Personen ohne Wirkung blieb. Auch die sehr zahlreichen und mit allen Kautelen angestellten Uebertragungsversuche von Berkefeld-Filtraten aus Sekreten Grippekranker, über welche Schmidt berichtet, bieten keinen Beweis für die Existenz eines invisiblen Virus als Ursache der Influenza.

Eine Reihe von Autoren behauptet, diese hypothetischen filtrierbaren Influenzaerreger mikroskopisch gesehen und sogar gezüchtet zu haben. So beschreibt Leschke kleinste, runde, gramnegative Körnchen, die er in ungeheuren Massen im Ausstrich von Bronchialsekret bei akuten Todesfällen, ebenso in Schnittpräparaten von Lungengewebe, am dichtesten in der Wand der Bronchiolen, der Venen und ihrer Umgebung gesehen hat. Auch Binder und Prell wollen in Lungenschnitten Haufen von offenbar ähnlichen kleinsten Körnchen angetroffen haben, die sie als Ursache der Influenza unter dem Namen „Aenygmoplasma Influenzae“ beschreiben. Aber Prell selbst sieht sich dann genötigt, in seiner Arbeit „Zur Aetiologie der pandemischen Grippe“ in einer Korrekturanmerkung auf die Möglichkeit hinzuweisen, „daß diese Granulakomplexe vielleicht als Anhäufung atypisch gestalteter Influenzabazillen anzusprechen sind. Durch das Auftreten der sehr kleinen Formen der Influenzabazillen würde sich vielleicht die Infektiosität mancher Filtrate erklären lassen, . . .“ „Was nun die angeblichen Kulturen des Grippeerregers anbetrifft, so beschreibt Angerer, der bakterienfreie Filtrate des Herzblutes und Lungensaftes von Grippeleichen in Traubenzuckerbouillon gezüchtet hat, das Auftreten leichter opaleszierender Trübungen, die durch kleinste kokkenartige Gebilde in lebhafter Molekularbewegung hervorgebracht werden. Offenbar die gleichen Gebilde sah auch Leschke in seinen mit Ascitesflüssigkeit versetzten Berkefeld- und Chamberland-Filtraten aus Grippesputum und Lungensaft.

Es liegt kein Beweis dafür vor, daß diese zarten Trübungen und die sie hervorruhenden kleinsten Körnchen tatsächlich lebende Mikroorganismen gewesen sind, da von Nachuntersuchern auch in Kontrollen,

die mit dem Blut gesunder Menschen angesetzt wurden, ganz ähnliche Trübungen und Körnchen gefunden wurden. Die Deutung, daß es sich um Eiweißpräzipitate handelt, liegt unter diesen Umständen außerordentlich nahe. Für die Kulturen, die Bradford, Bashford und Wilson nach der Methode von Noguchi aus Blut-, Sputa-, Pleuraexsudat-, Cerebrospinalflüssigkeitsfiltraten erhalten haben wollen, hat dann Arkwright, der diese Kulturen prüfen konnte, den Nachweis geführt, daß die Trübungen wesentlich durch eine Infektion mit gewöhnlichen grampositiven Kokken, also durch Versuchsfehler, hervorgerufen waren, was Bradford und Wilson als berechtigt anerkennen mußten. Die daneben vorkommenden feinsten Moleküle erklärte auch Arkwright als Eiweißniederschläge.

Unter den obwaltenden Verhältnissen ist der Beweis, daß bei der Influenza ein filtrierbares Virus eine Rolle spielt, nach keiner Richtung hin als erbracht anzusehen.

Es ist also auch auf diesem anscheinend so aussichtsreichen Wege ein weiterer Fortschritt über die von mir seit 1891 vertretene Auffassung, wonach die Ursache der Influenza durch die von mir entdeckten Bazillen bedingt ist, bisher nicht zu konstatieren.

#### Diskussion.

**Bieling:** Der Agglutinationsversuch kann nur dann zur ätiologischen und diagnostischen Untersuchung der Influenza herangezogen werden, wenn der Untersucher im Besitze eines zweckmäßigen und brauchbaren Antigens ist.

Die Herstellung eines solchen geeigneten Antigens scheitert im allgemeinen an der Unbrauchbarkeit der großen Mehrzahl der Influenzastämme. Sehr viele Influenzastämme scheiden als spontan agglutinabel oder infolge der Häufung inagglutinabler Generationen aus. Von dem verbleibenden Rest sind fast alle monovalente Stämme. Ich verstehe darunter Influenzabazillen, welche bei der Immunisierung von Tieren ein Serum erzeugen, das nur den Behandlungstamm beeinflusst, andere Influenzastämme aber nicht agglutiniert. Freilich wird man dann, wenn man eine große Anzahl von Stämmen untersucht, auch einmal mehrere Kulturen verschiedener Herkunft finden, welche agglutinatorisch mehr oder weniger zusammenfallen, ohne daß man solche Stämme schon als polyvalente bezeichnen dürfte. Unter polyvalenten Influenzastämmen habe ich solche verstanden, welche bei der Immunisierung von Mensch und Tier ein Serum erzeugen, das die übergroße Mehrzahl der Influenzaeinzelstämme agglutiniert und die außerdem von der Mehrzahl der mit monovalenten Influenzastämmen hergestellten Immunseren beeinflusst werden. Dieses Zusammentreffen der beiden Eigenschaften zeigt schon, daß wir es hier nicht mit qualitativen, sondern nur mit quantitativen Rezeptorendifferenzen zu tun haben. Die polyvalenten Stämme zeichnen sich also dadurch aus, daß sie außer den stammesspezifischen Rezeptoren eine besonders große Anzahl artspezifischer Rezeptoren, also Influenzarezeptoren schlechthin, besitzen. Diese artspezifischen Rezeptoren haben eine besonders starke Empfindlichkeit gegen einzelne Desinfizientien und gegen höhere Wärmegrade, und es empfiehlt sich daher, nur mit frischen Aufschwemmungen zu arbeiten, die 1 Proz. Formalin enthalten. Bemerkenswert ist es jedenfalls, daß die der ganzen Art gemeinsamen Rezeptoren hier die labilen sind, im Gegensatz zu anderen Bakterienarten. Die praktische Erprobung eines derartigen polyvalenten Influenzaantigens wurde in Gemeinschaft mit Weichbrodt an der psychiatrischen Klinik in Frankfurt vorgenommen und dabei festgestellt, daß im Verlauf der Grippeerkrankung mit genügender Regelmäßigkeit eine Neubildung von Influenzaantikörpern stattfindet, welche nach der 1. Krankheitswoche einsetzend bis zur 3. Krankheitswoche anhält und dann gewöhnlich rasch wieder aussetzt. Normale Sera reagierten bei der angewandten Technik überhaupt nicht oder höchstens bis zur Serumverdünnung 1:20, Sera Grippekranker steigen maximal bis zu 1:640. In der 1. Krankheitswoche lag der Durchschnittswert bei 1:30, in der 2. Krankheitswoche bei 1:100 und in der 3. Krankheitswoche bei 1:120, um dann in den folgenden Wochen auf 1:65 herabzusinken. Bei Verwendung eines zweckmäßig zusammengesetzten Antigens konnte also mit überraschender Regelmäßigkeit die Beteiligung des Influenzabazillus bei der Grippeinfektion festgestellt werden.

Die Anwendung der Komplementbindungsreaktion hätte zwar von vornherein den Vorteil, daß hier jene Rezeptorendifferenzen in Fortfall kommen; denn sie ist unabhängig von den agglutinatorischen Unterschieden der zur Antigenbereitung benutzten Stämme. Die Bildung der komplementbindenden Körper setzt aber bei Mensch und Tier so spät ein, daß man im Verlauf der Erkrankung kaum mit exakten, die Fehlergrenzen überschreitenden Ausschlägen rechnen darf.

Diese Untersuchungen, welche das regelmäßige Auftreten von Influenzaagglutininen bei Grippekranken zeigen, weisen also erneut auf die Bedeutung des Influenzabazillus bei der Grippe hin und sind geeignet, eine Rückkehr zu den Anschauungen R. Pfeiffers anzubahnen, einerlei, ob man sich nun der strikten Anschauung des Entdeckers der Influenzabazillen anschließen will, oder den recht interessanten Ansichten Sahlis über das komplexe Virus und das gesetzmäßige Zusammenwirken von Influenzabazillen mit Streptokokken und Pneumokokken.

Eine zweckmäßige Ergänzung erfahren diese serologischen Untersuchungen jedenfalls in den groß angelegten Affenversuchen von Blacke und Cecil, welche nach 12 peritonealen Affenpassagen mit ihrem Influenzastamm beim Affen eine typische Grippe hervorriefen, die im klinischen Verlauf und pathologisch-anatomischen Befund der menschlichen Grippe entspricht. Unter diesen Umständen erscheint es gerechtfertigt, den Nachweis der Influenzaagglutinine beim grippekranken Menschen mit für die ätiologische Beurteilung der Grippekrankung heranzuziehen.

Much (Hamburg): Ich vermissen, daß noch kein Wort über die biologische Behandlung der Grippe gefallen ist. Das ist doch die Hauptsache.

Ich selber habe über sehr günstige Erfahrungen unter Benutzung der unabh. bestimmten Immunität zu berichten. Siehe Much, Schmidt und Peemöller, Zur Grippeerkennung und Grippebehandlung. Münch. med. Wochenschr. 1920. No. 37.

Dabei wurden auch Quaddelimpfungen mit den verschiedensten Stoffen gemacht. Es gibt zu denken, daß es an den verschiedensten Stellen nicht gelang, während des Würens der Seuche Influenzabazillen zu züchten, so daß Quaddelimpfungen mit ihnen nur in ganz wenigen Fällen vorgenommen werden konnten. Ich vermissen, daß diese wichtigste aller Immunitätsreaktionen mit den Influenzabazillen von denen, die den Influenzabazillus für die Seuche verantwortlich machen, nicht angewandt wurde. Dafür ist gewiß wieder die Klinikferne der Institute verantwortlich. Es ist das nächste, was geschehen muß, sonst klafft eine große Lücke in der Beweisführung für und gegen. Ich selbst nehme keine Stellung zu der Frage, da mir nur das Heilenkönnen am Herzen liegt.

Kruse: Die Tatsachen sind gegeben. In der Deutung der Tatsachen weiche ich von Herrn Pfeiffer vollständig ab. Das kann nur an der Schwierigkeit des Problems liegen. Eigene Erfahrungen reichen bis 1889 zurück. Damals mikroskopisch nichts von influenzaartigen Stäbchen, 1895 in fast allen Fällen mikroskopisch und kulturell die Pfeifferschen Stäbchen! Von da an verschwinden sie allmählich wieder bei der Grippe, treten dagegen als Begleiter von Keuchhusten, Masern usw. auf. Vereinzelt wurden sie auch als alleinige Erreger bis kurz vor der Pandemie von 1918 allenthalben gefunden, merkwürdigerweise aber öfter bei ausgefallenen Erkrankungen wie Meningitis, als bei Grippeausbreitungen. Im Juli 1918 beim ersten Ausbruch der Seuche fand auch Kruse, wie die meisten Forscher die Pfeifferschen Bazillen nur selten trotz völliger Beherrschung der Methodik. Erst seit Oktober 1918 wurden sie wieder gemein. All das läßt sich nur mit der Deutung vereinigen, daß die Pfeifferschen Bazillen nur sekundäre Bedeutung haben. Auch die epidemiologischen Tatsachen lassen sich nicht mit der Pfeifferschen Auffassung vereinigen. Warum sollen die Bazillen, die überall vorhanden waren und keine Influenza mehr erzeugten, plötzlich in der ganzen Welt ihre Influenzanatur wiederentdeckt haben?

Welches denn in Wahrheit die Erreger der pandemischen Influenza sind, läßt sich noch nicht sagen, da die Filtrierungsversuche nicht genügen und nicht entscheidend sind. Die endgültige Lösung des Rätsels kann wohl nur unter Zuhilfenahme umfassender Versuche an Menschen erwartet werden.

Czaplewski bekennt sich durchaus als Anhänger der Rich. Pfeifferschen Anschauungen für die ätiologische Bedeutung des Influenzabazillus. Er betont bezüglich des Nichtauffindens, daß je besser die Methodik, um so besser auch die Resultate werden. Dazu gehört aber namentlich frisches, sauberes Material direkt vom Kranken (am besten Morgensputum) und frische richtige Nährböden. Er erinnert an den von ihm seinerzeit (Centralbl. f. Bakt. XXXII. 1902. Nr. 8/9. S. 667—670) beschriebenen Blutagar, bei dem das Blut im verflüssigten heißen (nach Voges) Agar

verteilt und durch Zugießen von sterilem heißen Agar die gewünschte Verdünnung hergestellt wird. Die Influenzabazillenkolonien wachsen darauf aber nicht tautropfenartig hell, sondern dicker erhaben, mehr graugelblich, durchscheinend, langsam sogar auch bei Zimmertemperatur. Die Kulturen wachsen aber auch tagelang weiter und bleiben länger überimpfbar. Der Nährboden muß leicht alkalisch sein, wenn nicht das Wachstum wie beim Pneumococcus (cf. Albert Fraenkel) ausbleiben soll. Hierauf dürfte sich das von Rich. Pfeiffer erwähnte Ausbleiben des Wachstums bei Kindern, falls saurer Magensaft bei Husten mit Erbrechen beigemischt ist, erklären. 3 Proz. Agar ist zu viel. Bei 2 Proz., ja unter 2 Proz. ist das Wachstum besser. Dazu gehört eine feuchte Oberfläche von frisch erstarrten Nährböden.

Die Bildung von Bronchiektasen erscheint Czaplewski leicht verständlich, wenn man sich erinnert, daß bei Influenza mitunter eine vollständige Abrasio mucosae mit fetzenweiser Abstoßung von Flimmerepithelien der Bronchien stattfindet.

Czaplewski spricht sich gegen die Annahme einer Ubiquität des Influenzabazillus aus. 1900 war noch eine Influenzaepidemie in Köln, der auch Otto Leichtenstern (an der von ihm beschriebenen (!) asthenischen Pneumonie) zum Opfer fiel. Danach verschwand die Influenza aus Köln. Czaplewski und sein Mitarbeiter Max Auerbach-Köln wiesen dann die Influenzabazillen (Zeitschr. f. Hyg. 1904. Bd. 47 u. 48) in Köln bei Diphtherieuntersuchungen als gelegentlichen Nebenfund nach. Auerbach verfolgte weiter ihr Vorkommen systematisch. Gelegentlich fanden sich auch die Influenzabazillen fast als Reinkultur in münzenförmigen, weiß-gelblich-grünen, angeblich tuberkulösen Sputis. Brieger hat ferner schon vor Jahren nachgewiesen, daß es eine Form der chronischen Influenza (auf welche übrigens Rich. Pfeiffer zuerst hingewiesen hat) gibt, bei welcher Influenzabazillen-haltiger Auswurf mitunter nur anfallsweise in Intervallen von vielen Tagen entleert wird. Den Angaben über Befunde von feinsten Diploformen als Erreger bei Influenza steht Czaplewski sehr skeptisch gegenüber. Ebensolche Formen erhält man mit starken, namentlich aber alten Karbolfuchsinlösungen.

Uhlenhuth: Die Technik der Untersuchung spielt eine ausschlaggebende Rolle. Man muß vor allem — bei Berechnung der Prozentzahlen — sichere Fälle von Influenza aussuchen und frische Fälle. Die Verarbeitung des Materials muß am Krankenbett und zweckmäßig unter Benutzung der „Hustenplatte“ stattfinden. Mehrmalige Untersuchung ist erforderlich.

Wir haben im Juni 1918 — im Straßburger Institut — 48,9 Proz., im Oktober 90 Proz. positive Befunde erzielt.

Der Nährboden von Hundeshagen und Levinthal bedeutet einen Fortschritt. Er muß sorgfältig hergestellt werden, nach 24-stündigem Stehen wurde besseres Wachstum beobachtet als nach frischer Verwendung.

Lokale Verhältnisse spielen meiner Ansicht nach keine Rolle. Bei gesunden Soldaten (100) wurden damals keine Influenzabazillen gefunden, auch nicht bei Bronchitis. Ubiquitär sind die Influenzabazillen wohl nicht. Bei Tieren haben wir sie in Straßburg nicht gefunden (Messerschmidt), jedoch fanden wir bei früheren Untersuchungen von Material von Hühnerdiphtherie Bazillen, die von Influenzabazillen nicht zu unterscheiden waren (s. Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 27). Ob diese und bei anderen menschlichen Krankheiten (Keuchhusten, Masern) gefundenen Bazillen, wenn sie auch den Influenzabazillen vollkommen gleichen, mit diesen identisch sind, erscheint zweifelhaft. Man denke an die Gruppe der Paratyphusbazillen. (Paratyphus B, Mäusetyphus, Psittacosisbazillus etc.)

In epidemiefreien Zeiten scheinen sie doch selten zu sein. Bei kleineren Influenzaausbrüchen wurden sie 1914—1917 auch in Straßburg gefunden. Wie es zur Pandemie kommt, darüber wissen wir nichts.

Die Influenzabazillen sind bei sorgfältiger Untersuchung fast in 100 Proz. der Fälle nachzuweisen und für Influenza also durchaus charakteristisch. Auch haben sie zu den pathologischen Veränderungen (Lunge etc.) charakteristische Beziehungen. Je frischer die Veränderungen, um so häufiger werden sie gefunden, am besten bei Sektionen unmittelbar nach dem Tode. Beim Typhus haben wir bei wiederholten Stuhluntersuchungen auch nur in 55—62 Proz. positive Befunde. Serologisch hatten wir in Straßburg keine positiven Befunde; es scheint aber nach neueren Untersuchungen die Polyvalenz eine ausschlaggebende Rolle zu spielen. Leider fehlen als Beweis — für die Erregernatur — positive Uebertragungsversuche bei Tieren und Menschen. Wir haben an Affen negative Ergebnisse gehabt. Die positiven Befunde der Amerikaner sind mir nicht beweiskräftig genug. Ich vermisste auch eine natürliche Uebertragung der infizierten Affen auf gesunde Affen.

Der „Schweinepestbazillus“ kann experimentell auch das anatomische Bild der

Schweinepest erzeugen, ebenso wie das filtrierbare Virus; erstere steckt aber in der Regel nicht an, letztere ist hochinfektiös.

Zur Prüfung der Frage, ob die Influenza durch die Pfeifferschen Bazillen oder durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen wird, haben wir mit Messerschmidt folgende Versuche (1918) angestellt.

Diese Prüfungen am Menschen fanden statt an einem Orte, wo trotz der herrschenden Pandemie noch keine Grippe und damit eine sonstige Infektionsmöglichkeit vorlag.

Gelegenheit zu Erkältungen und sonstigen eventuell schädigenden Einflüssen allgemeiner Natur hatten die Versuchspersonen nicht.

Unsere Infektionsstoffe bestanden aus:

1. Abschwemmungen von frisch isolierten typischen Pfeifferschen Bazillen. Diese wurden vorher unmittelbar in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Nach etwa 4 Std. ließen sich im nicht verbrauchten Rest der Abschwemmungen noch Influenzabazillen lebend durch die Kultur nachweisen.

2. Filtrate vom Auswurf typisch Kranker mit positivem Befund von Influenzabazillen. Die Patienten waren sehr schwer krank.

Der frisch entleerte Auswurf wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen und etwa  $\frac{1}{4}$  Std. später im Laboratorium verarbeitet, und zwar

a) durch kräftiges Schütteln mit Glasperlen im Schüttelapparat während  $\frac{3}{4}$  Std. und nachfolgendem Filtrieren durch eine dicke Fließpapierlage unter Anwendung der Saugpumpe. In diesem Filtrat gelang der Nachweis von Influenzabazillen neben Strepto- und Diplokokken.

b) durch Filtrieren des geschüttelten und dadurch homogenisierten Auswurfs durch eine Berkefeldkerze im Uhlénhuthschen Apparat.

Diese Filtrate waren kulturell steril.

3. Mischungen von 1. mit 2a und 2b.

2a und 2b wurden etwa  $\frac{2}{3}$  Std. nach dem Filtrieren verwandt. Die Mischung zu 3 wurde mit 2a und 2b unmittelbar vor dem Infektionsversuch angesetzt.

Die Personen machten etwa 25 cm vor einem Sprayapparat, der das Material enthielt, tiefe Atemübungen mit offenem Munde. Teils wurde hierbei auch der Apparat bis dicht vor den Mund gebracht.

Im ganzen haben wir mit dem Infektionsstoff

1. vier Menschen
2. a) drei „
- b) vier „
3. 1 + 2a fünf Menschen
- 1 + 2b fünf „

zu infizieren versucht. Unter diesen wurden die vier zu Nr. 1 auch mit 2a, 2b und 3 nacheinander im Abstand von etwa 7:7-Tagen besprays.

Alle Behandelten wurden, abgesehen von genauer ärztlicher Beobachtung, täglich 2mal gemessen.

Sie erkrankten nicht und hatten stets normale Temperaturen.

Etwa 7 Wochen nach Abschluß unserer negativen Versuche brach in der Anstalt eine Influenzaepidemie aus, bei der von unseren Versuchspersonen vier an Influenza typisch erkrankten.

Bezüglich des fraglichen Erregers sind unsere Versuche also nicht zu verwerten.

Vielleicht werden die Influenzabazillen in der Kultur sehr schnell avirulent oder auch die Prozedur des Filtrierens und der veränderten Temperaturverhältnisse haben die Virulenz des Virus geschädigt. Wahrscheinlich ist auch eine besondere Disposition erforderlich.

Weitere Versuche in dieser Richtung, die notwendig sind, werden vielleicht die noch fehlende Lücke ausfüllen.

Ich vertrete also heute noch den schon im Sommer 1918 (Med. Klinik 1918) von mir ausgesprochenen Satz: „Ehe nicht genügende Tatsachen ein anderes ätiologisches Agens beweisen, liegt kein Grund vor, die Erregernatur der Influenzabazillen in Abrede zu stellen.“

Levinthal (Berlin, a. G.): Bereits in den Jahren 1916 und 1917 kamen in Flandern Influenzaepidemien zur Beobachtung, bei denen, wie die behandelnden Kliniker bestätigen, fast stets von mir das Pfeiffersche Stäbchen kulturell nachgewiesen werden konnte. So durch Jahre mit dem Nachweis des Influenzabazillus vertraut geworden, durch den von mir angegebenen Influenzanährboden gut ausgerüstet, konnte ich von allem Anfang an schon bei der ersten Welle der Pandemie von 1918 in 59 bis 69 Proz. echter Grippefälle den Influenzabazillus züchten. Wenn der Prozentsatz positiver Fälle

bei der letzten Welle im Frühjahr 1920 in meinen Untersuchungen in Berlin auf 73 stieg, so liegt das an einer technischen Verbesserung, der Heranziehung von Hustenplatten neben Sputumaussaaten, wie an einem Beispiel zahlenmäßig bewiesen wird. Die Untersuchung von 9 Sektionen ergab vollends Influenzabazillen in 100 Proz., und zwar ausnahmslos sowohl in den noch lufthaltigen Partien der Lunge wie auch in den Zentren der bronchopneumonischen Herde. Im Gegensatz zu diesen Befunden bei Grippe konnten bei Masern und Keuchhusten, selbst in der Pandemiezeit, Influenzabazillen nur in wesentlich geringerem Maße nachgewiesen werden, wobei gewaltige Schwankungen (von 11 bis 100 Proz.) in Beziehung zu den jeweiligen Grippewellen gesetzt werden müssen. Alle diese Ergebnisse sind geeignet, die Anschauung Pfeiffers zu stützen und sie im Sinne Neufelds zu erweitern: die pandemische Influenza ist die Seuche hochvirulenter Influenzabazillen, die während der Pandemie in der gesamten Bevölkerung ausgestreut werden, dann auf den kranken Schleimbäuten von Masern- und Keuchhustenkindern, sowie Tuberkulöser und chronischer Bronchitiker schwach virulent sich über die seuchenfreie Zeit hinüberretten, bei geringeren Virulenzsteigerungen zu sporadischen Fällen echter Influenza, unter Umständen zu lokalen Epidemien Anlaß geben, bis nach Jahrzehnten von diesen endogenen Depots aus von neuem autochthon eine Pandemie entsteht, ein epidemiologisches Bild, das sein Gegenstück in den Ablaufgesetzen anderer Infektionskrankheiten, z. B. des Scharlachs, hat.

Huebschmann (Leipzig): Ich stehe auf dem Standpunkt der Pfeifferschen Lehre. Zu den Ausführungen des Herrn Referenten habe ich deswegen prinzipiell nichts hinzuzufügen. Wie er selbst aber und eine ganze Anzahl anderer Forscher glaube auch ich, daß in der Aetiologie und Epidemiologie der epidemischen Grippe noch manches Rätsel zu lösen ist. Nicht nur die bakteriologische, sondern auch die pathologisch-anatomische Betrachtungsweise muß zu dieser Auffassung führen. Die Lungenveränderungen, die durch den Pfeifferschen Influenzabazillus gesetzt werden, habe ich in mehreren Arbeiten genauer beschrieben. Es war nun auffallend, daß solche Veränderungen im Laufe der stärksten Schübe der Epidemie relativ selten festgestellt werden konnten. Jeder, der während der Epidemie Sektionen zu machen Gelegenheit hatte, konnte vielmehr feststellen, daß die übergroße Mehrzahl der Patienten nicht an der primären Influenzainfektion, sondern an sekundärer Infektion mit Eitererregern stirbt. Diese Sektionsbilder, die hier näher zu beschreiben sich erübrigt, sind wohl jedem bekannt, und jeder, der solche Fälle genauer untersucht hat, muß erstaunt gewesen sein, welch ungeheuerer Vermehrung der Eitererreger in den von der Infektion betroffenen Organismen stattgefunden hatte. Klinisch ist es dabei bemerkenswert, daß solche Infektionen mit Eitererregern ganz akut einsetzen und in kürzester Zeit zum Tode führen können. Dieses leichte Angehen der eitrigen Infektion und die überaus schwere Verbreitung im Körper ist meines Erachtens ein sehr wichtiger Punkt in der Lehre von der epidemischen Influenza. Gerade dadurch scheint sich mir die epidemische Influenza von der sporadischen zu unterscheiden, und hier müssen auch genauere Untersuchungen eingreifen, um den Mechanismus dieser Infektionen zu erklären. Experimentelle Untersuchungen scheinen bis jetzt fehlgeschlagen zu haben; eigene Untersuchungen an weißen Mäusen führten zu keinem Resultat. Es ist trotzdem gar keine andere Möglichkeit denkbar als die, daß der primäre Influenzaerreger, also der Pfeiffersche Bazillus, für die schweren eitrigen Infektionen den richtigen Boden schafft. Vielleicht ist es zweckmäßig, nach den Erfahrungen der letzten Epidemie alle Erkrankungen, die lediglich durch den Pfeifferschen Bazillus verursacht werden, als „Influenza“ zu bezeichnen, die pandemischen Erkrankungen aber, die sich durch das ungeheuer verbreitete Auftreten der sekundären Eiterinfektionen auszeichnen, mit dem Ausdruck „Grippe“ zu benennen.

Petruschky berichtet über Danziger Beobachtungen. Influenzaepidemien mit vorwiegend Pfeifferschen Bazillen wurden 1897, 1898 und 1907 beobachtet, später noch sporadische Fälle bis etwa 1910. Länger bei 2 Keimträgern: 1) einem alten Herrn mit offener Tuberkulose, der Influenzabazillen als Begleitbakterien im Auswurf hatte ohne zu fiebern, 2) einem alten Herrn vom Lande (Landwirt a. D.) mit chronischer Bronchitis und eitrigem Auswurf. Bei dem letzten wurde ohne weiteres der Entkeimungsversuch durch spezifische Behandlung gemacht, der in einigen Monaten zur Entkeimung und Heilung des Patienten führte. Er wurde mit abgetöteten Influenzabazillenkulturen emulsionen ausgeführt. Der gleiche Versuch wurde nun bei dem Tuberkelbazillenrekongaleszenten ausgeführt, dessen Auswurf bereits frei von Tuberkelbazillen war, aber noch regelmäßig Influenzabazillen enthielt. Dieser Patient war aber gegen die Einspritzung von Influenzabazillenemulsionen so überempfindlich, daß er sie schließlich ablehnte.

Seit 1910 kamen zwar vielfach katarrhalische Erkrankungen mit mehr oder weniger erheblicher Ausbreitung vor, die teils durch *Dipl. catarrhalis*, teils Streptokokken, teils Pneumokokken oder Mischungen mehrerer Erreger bedingt waren. Dann kam 1915 das Fleckfieber. Fast alle Kranken zeigten weitgehende, meist pneumonische Erkrankungen der Atmungswege. Die Pneumonien waren atypisch. Das Bronchiolensekret glasig, nicht eitrig, Pneumokokken oft, aber nicht regelmäßig vorhanden. Der regelmäßige Befund war ein dem Influenzabazillus sehr ähnlicher, aber nach Gram färbbarer, auf gewöhnlichem Agar wachsender Bazillus, der sich auch im Blut, in der Petechialhaut und inneren Organen nachweisen ließ (cf. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.).

Das Krankheitsbild der Grippe — hohes Fieber, Katarrh der Atmungswege, Nervenstörungen — kann auch durch *Dipl. catarrhalis*, Streptokokken, Pneumokokken, Schleimbazillen (Friedländer, Kreibohm) und deren Mischungen erzeugt werden ohne Anwesenheit des Pfeifferschen Bazillus. Bei den größeren Pandemien scheint er bis jetzt nie ganz vermißt zu sein. Lokale Epidemien z. B. von Pneumokokkenpneumonien (bis 4 Fälle in einer Familie) konnten in der Kriegszeit in Pommern und Westpreußen beobachtet werden. Bei der letzten großen Grippeepidemie 1918/19 waren in Danzig ebenfalls Pneumokokken vorherrschend, das Sputum vielfach hell blutig. Influenzabazillen konnte ich nur in 2 Fällen in geringer Menge nachweisen; sie waren anscheinend von den virulenteren Pneumokokken überwuchert worden. Todesfälle waren zahlreich. Durch Einreibung von „Linimentum anti-catarrhale“, welches Pneumokokkenemulsionen von Stämmen aus der letzten Grippeepidemie enthielt, konnte die Erkrankung verhütet, der Verlauf noch nach Beginn der Erkrankung gemildert werden.

Neufeld: Der Influenzaagar nach Voges, den ich seit den 90er Jahren durch mündliche Mitteilung kenne, wird durch Zusatz von vorher (durch Gefrieren und Auftauen) hämolysiertem Blut zu flüssigem Agar hergestellt. Er ist ausgezeichnet, aber der Levinthalsche Agar ist noch besser.

Die verschiedenen Ergebnisse bez. der Agglutination erklären sich dadurch, daß offenbar sowohl die Widalsche Reaktion bei Influenzakranken als auch die Herstellung gut agglutinierender Kaninchenserum nur bei Benutzung gewisser geeigneter Stämme gelingt.

Viele negative Sputumbefunde sind darauf zurückzuführen, daß in sehr vielen Fällen die mikroskopische Unterscheidung von Influenzabazillen und Diplokokken ganz unmöglich ist.

Bezüglich der Immunität steht N. im Gegensatz zum Referenten: ohne Annahme einer langdauernden Immunität infolge Durchseuchung ist die Epidemiologie der Influenza nicht zu verstehen.

Messerschmidt (Hannover) weist darauf hin, daß die Technik bei dem Nachweis der Influenzabazillen von größter Bedeutung ist. Der einzelne Kranke muß unter Umständen mehrfach bakteriologisch untersucht werden. Der Nährboden (nach Levinthal) muß auf seine Brauchbarkeit durch Reinkulturen täglich geprüft werden. Nur wenn der Nährboden sich als einwandfrei erwiesen hat, sind die negativen Befunde zu verwerten. Die Blutart ist ziemlich gleichgültig. Hammelblut von Wassermann-Tieren scheint indessen am wenigsten günstig zu sein.

Von einer Ubiquität der Influenzabazillen kann keine Rede sein. Sie fanden sich in Hannover 1920 nur einige Male im tuberkulösen Auswurf und bei etwa 40 Untersuchungen von Prostatitissekret 2mal. Bei vielen hundert sonstigen Prüfungen von den verschiedensten Se- und Exkreten tierischer und menschlicher Herkunft, ebenso in der Außenwelt wurden sie in influenzafreier Zeit nie gefunden. Allerdings standen Masern- und Keuchhustenkranke zur Untersuchung nicht zur Verfügung.

Selter: Aus den bisherigen Erörterungen geht übereinstimmend hervor, daß es mit einer raffinierten Technik gelungen ist, kulturell häufiger die Influenzabazillen zu finden, dagegen mikroskopisch selten oder nie, ein Zeichen, daß die Influenzabazillen spärlich vorhanden sein können, aber nicht gerade ein Beweis für die ätiologische Bedeutung der Influenzabazillen. Herr Pfeiffer erkennt die bisherigen Versuche am Menschen mit filtrierbarem Virus nicht als beweisend an; auch ich halte sie nicht für allgemeingültig. Auf der anderen Seite wird aber den Versuchen an Affen und einem Menschen eine größere Bedeutung beigemessen. Man muß an die Möglichkeit denken, daß das unbekannte Virus in Symbiose mit den Influenzabazillen auf den Kulturplatten wächst und in Infektionsversuchen seine Wirkung ausübt. Dafür spricht



ein Versuch an einem Pferde mit Streptokokken, die von mir für die Erreger einer influenzaähnlichen Erkrankung der Pferde in Belgien (unter den belgischen Tierärzten als Paardezykte bekannt) angesehen wurden. Später bin ich zu der Ueberzeugung gekommen, daß auch hier ein unbekanntes Virus die Ursache gewesen ist. Dieses ist mit den Streptokokken auf der Platte wahrscheinlich angereichert worden. Die Abschwemmung der Platte wurde intravenös einem Pferde injiziert, das nach 3 Tagen an typischen Erscheinungen einging.

C. Jacobsthal (Hamburg): Der Herr Referent hat nach meiner Meinung die von französischer und ungarischer Seite veröffentlichten Tierversuche mit filtriertem Virus in ihrer Bedeutung bedeutend unterschätzt. Ich bin der letzte, der die Bedeutung des Influenzabazillus ganz leugnen würde; denn in meinem Laboratorium ist er in mindestens 60 Proz. der Fälle bei der letzten Epidemie gefunden worden. Aber so wenig wir geneigt sein würden, den ebenso häufig bei Influenza gefundenen, eigenartigen Streptococcus als Erreger anzusehen, so wenig dürfen wir es für den Influenzabazillus. Was dem einen dieser Erreger recht ist, ist dem anderen billig. Ich bin der Meinung, daß das filtrierbare, aber noch nicht sicher dargestellte, echte Influenzavirus diesen Streptokokken, Influenzabazillen und auch Pneumokokken erst die Wege zur Invasion ebnet; sie sind also als Sekundärerreger anzusehen. Die Hamburger verschiedenen Laboratorien, in denen so gut wie immer (Simmonds, Jacobsthal) oder fast nie (Graetz) Influenzabazillen gefunden wurden, bieten ein gutes Beispiel für die Wichtigkeit der Einwertung des persönlichen Faktors bei Massenuntersuchungen.

Im übrigen möchte ich, nachdem bei einer Epidemie zuerst Influenzareinkulturen gewonnen sind, für die Diagnose der späteren Fälle die Untersuchung der Blutstrichschmierplatte analog der Anwendung der Schmierplatte bei der Diphtheriediagnose empfehlen. Die charakteristische Morphologie der Influenzabazillen in Symbiose gestattet das.

In meinem Laboratorium wurden endlich gemeinsam mit Herrn Zeckendorf Versuche zur elektiven Züchtung des Influenzabazillus aus dem Bakterien-gemisch der Lunge und Eiter angestellt. Wir benutzten mit Erfolg den Zusatz von Vuzin. bihydrochlor. sowie von Monochlor- $\beta$ -Naphthol in geeigneten Verdünnungen zur Hintanhaltung der Pneumokokken. Die Versuche werden demnächst veröffentlicht.

Sobernheim: Influenzabazillen wurden auch in dem Berner Institut bei der letzten Epidemie in zahlreichen Fällen nachgewiesen, in der ersten Periode (1918) seltener, in der zweiten Periode (1919) häufiger. Worauf dieser Unterschied beruht, ist nicht völlig geklärt, technische Schwierigkeiten spielen aber sicher eine wichtige Rolle dabei. Zwingende Gründe gegen die Anerkennung der Erreger-natur des Pfeifferschen Bazillus liegen bisher nicht vor, die Versuche an Menschen und Tieren, die für die Existenz eines filtrierbaren Virus sprechen sollen, halten der Kritik nicht stand. Eine Immunität gegen Influenza besteht unzweifelhaft (Beobachtungen in Schulen und Truppenteilen), ist aber von kurzer Dauer und geringer Stärke. Die epidemiologischen Besonderheiten der neuen Epidemie mit einer von der früheren Pandemie her bestehenden Immunität der höheren Altersklassen erklären zu wollen, ist unhaltbar.

Kisskalt: Für die ätiologische Bewertung des Pfeifferschen Bazillus ist es, wie vorhin betont wurde, von größter Wichtigkeit, ob die pandemische Influenza eine selbständige Krankheit oder mit der endemischen identisch ist, da sich die Bazillen bekanntlich auch bei letzterer finden. Da die Bakteriologie noch keine sichere Auskunft darüber geben kann, ist die Epidemiologie, die induktive Seuchenforschung, die leider jahrzehntelang gegenüber den deduktiven vernachlässigt worden ist, zur Mitarbeit berufen. Es gibt nun einerseits pandemische Seuchen, die im Intervall völlig verschwinden, wie der englische Schweiß und die Cholera. Andererseits erheben sich endemische Seuchen oft zu bedeutender Höhe. Theoretisch ist dies denkbar so, daß ein Erreger örtlich virulent wird, oder durch Einschleppung eines besonders virulenten Erregers, der eventuell weithin wandert. Nun läßt sich zwar bei Masern im ganzen 19. Jahrhundert keine Epidemie nachweisen, die in außergewöhnlicher Höhe von einer Stadt zur anderen gewandert ist. Dagegen ist das Wandern von mittelschweren Masern-epidemien durch Schweden von Almqvist nachgewiesen, und vermutlich haben damals doch auch Masern endemisch geherrscht. Sicher ist dies der Fall bei Scharlach. Dies läßt sich besonders gut in Schleswig-Holstein studieren, da dort die Seuchen nur vom Süden her eingeschleppt wurden. Es lassen sich Scharlachepidemien nachweisen, die im Laufe von 3 Jahren die Provinz von Süden nach Norden durchziehen, während



gleichzeitig, vorher und nachher die Krankheit endemisch herrscht. Es ist also auch bei Influenza wohl denkbar, daß die Krankheit dauernd herrscht, ohne große Ausbreitung zu nehmen, und nur von Zeit zu Zeit als heftige Seuche die Länder durchzieht.

C. Prausnitz: In pneumonischen Herden bei Influenzaleichen wurden gelegentlich nur spärliche Influenzabazillen, daneben zahlreiche feine körnige Gebilde wechselnder Größe gesehen. In den Kulturen entwickelten sich Reinkulturen von Influenzabazillen viel reichlicher als den im Ausstrichpräparat gesehenen Bazillen entsprochen hätte. Die Annahme lag nahe, daß diese Gebilde Degenerationsprodukte der Influenzabazillen wären. In der Tat ließen sich ähnliche granulaartige Gebilde künstlich darstellen, wenn Reinkulturen von Influenzabazillen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen gespritzt wurden. Eine halbe bis eine Stunde nach der Einspritzung fanden sich neben spärlichen Influenzabazillen sehr zahlreiche, den Choleragranula durchaus ähnliche, aber entsprechend der Kleinheit der Influenzabazillen wesentlich kleinere körnige Gebilde, die mit den oben beschriebenen große Ähnlichkeit zeigten. Sie waren im ungefärbten Präparat sichtbar und konnten durch intensive Färbung mit Karbolfuchsin oder Kristallviolett gefärbt werden. Die aus dem Exsudat hergestellten Kulturen ergaben Reinkulturen von Influenzabazillen. Die Größenordnung dieser Granula macht es wahrscheinlich, daß sie bakterienartige Filter noch passieren können. Diese Beobachtungen geben damit die Möglichkeit einer Erklärung für die seltenen Fälle, in denen es mit Filtraten von Influenzasekreten gelungen sein soll, die Krankheit künstlich zu übertragen.

#### Mandelbaum.

Jos. Koch (Berlin): Denselben Streit, den wir über die ätiologische Rolle des Influenzaerregers führen, haben wir bei anderen Infektionskrankheiten ebenfalls. Ich nenne hier nur die Ruhr. Die Zweifel, die Herr Kruse gegen die Erregernatur der Influenzabazillen geäußert hat, könnte man auch gegen die von ihm entdeckten Ruhrbazillen erheben; trotzdem stehen wir auf dem Standpunkt, daß die Kruse-Shiga-Bazillen die Erreger der Ruhr sind. Aber ebensowenig haben wir meines Erachtens Veranlassung, nach den Erfahrungen und Lehren der großen Influenzaepidemien der Kriegszeit an der ätiologischen Bedeutung der Influenzabazillen zu zweifeln. Die Streptokokken, die gerade die schweren Krankheitsbilder verursacht haben, sind Mischinfektionserreger. Sie spielen bekanntlich beim Menschen, besonders aber bei den Infektionskrankheiten des Kindesalters, z. B. bei der Diphtherie, dem Scharlach, Keuchhusten, Masern usw. eine große Rolle, sind auch häufig die Todesursache, ohne daß sie als die eigentlichen Erreger der betr. Infektionskrankheit in Betracht kämen.

P. Schmidt (Halle a./S.) verweist auf eine demnächst erscheinende Arbeit (D. med. Wochenschr. 1920. Nr. 43.) über Impfversuche am Menschen, die im Frühjahr 1919 und Frühjahr 1920 während der damaligen schweren Grippewellen vorgenommen wurden. Die Fälle, die Sekret für die Berkefeld-Filtrationen lieferten, wurden in leichtere und schwere ernste Grippefälle eingeteilt. Kontrollimpfungen mit NaCl-Lösung ergaben bei den einfachen schnupfenartigen Fällen sogar in einem höheren Prozentsatz positive Erfolge, so daß Schlüsse unzulässig erscheinen. Da, wo schwere Grippefälle entstanden, wurden mittels Eierbouillon Streptokokken vom Viridans-Typus kultiviert (nicht mit gewöhnlicher Nährbouillon). Ich wage mich nicht zu entscheiden in der Erregerfrage aus diesen Resultaten, doch möchte ich dringend zur größten Vorsicht, speziell bei der Filtration raten. Nähere Angaben über die Art der Filtration sind unerlässlich. Im übrigen halte ich für möglich, daß gelegentlich auch Pfeiffersche Bazillen die Filter passieren.

#### Bresslau (Frankfurt a./M.).

Doerr (Basel): Der Wert von Menschenexperimenten liegt nicht in ihrer Zahl, sondern in den Bedingungen, unter welchen sie angestellt werden. Bisher haben die Infektionsversuche mit Blut oder Sputum von Influenzakranken oder mit Filtraten dieser Substrate die Frage der Influenzaätiologie nicht geklärt; den negativen Ergebnissen von Friedberger und von amerikanischen Autoren stehen die positiven Resultate gegenüber, welche Yamanouchi an ca. 70 Personen erzielt haben will und die weder im Referat noch in der Diskussion erwähnt wurden. Meine Erfahrungen

beschränken sich auf zwei Selbstversuche, welche negativ verliefen: (a) subkutane Injektion von frischem, influenzabazillenhaltigem, mit Bouillon verriebenem, durch Reichelkerzen filtriertem, rein eitrigem Grippeputum; das Filtrat war steril, auch frei von Influenzabazillen; b) subkutane Injektion von frischem, defibriniertem, durch Reichelkerzen filtriertem Blut, entnommen am ersten Krankheitstage eines typischen Grippefalles].

W. Rosenthal (Göttingen): Ich möchte nur einige Worte sagen zur Frage der Empfänglichkeit der Menschen für die Influenza. Der Herr Referent hat als Beweis für die verhältnismäßig geringe Empfänglichkeit die Statistik der Krankenkassen in Breslau vom Sommer 1918 angeführt. Mir scheint, daß diese notwendig einen viel zu geringen Wert ergeben muß, erstlich wegen der 3-tägigen Karenzzeit, und zweitens, weil damals eine Zeit lebhafter Beschäftigung bei sehr hohen Löhnen war. Ich möchte dem gegenüberstellen Beobachtungen aus der gleichen Zeit im Felde, die freilich an einer vergleichsweise sehr kleinen Menschenzahl gemacht sind. Bei dem Bataillon, dessen Arzt ich damals war, gingen von Mitte Juni bis Anfang August 50 Proz. der Mannschaft mit typischer Influenza zu, die ich fast ausnahmslos selbst klinisch diagnostiziert habe, in einer Batterie 70–80 Proz. Und das waren noch nicht alle Angesteckten — denn ich weiß, daß Leute, die einen Abend hohes Fieber hatten, sich gar nicht krank gemeldet haben (die Truppe lag in Ruhestellung). Dabei war aber diese so hochinfektiöse Grippe sehr gutartig: trotz mehrfacher Fiebertemperaturen über 40° brauchte ich nur wenige Leute in das Lazarett zu schicken, und auch diese kehrten alle bald geheilt zur Truppe zurück — bei keinem trat eine schwere Komplikation ein.

E. Wolff (Berlin, a. G.): In der Frage der Influenzaätiologie verdient die pathologisch-anatomische Betrachtungsweise mehr Beachtung. Speziell der Bazillennachweis im histologischen Präparat (z. B. Dietrich, Hübschmann) kann in seiner Beziehung zu den gesetzten Veränderungen in geeigneten Fällen als wichtige Stütze für die Pfeiffersche Anschauung herangezogen werden. — Hinweis auf die Arbeit von Fildes und McIntosh, die mit filtrierten Influenzabazillen-Bouillonkulturen beim Meerschweinchen schwere Krankheit, Blutdrucksenkung, Tod im Kollaps und grippeähnliche Lungenveränderungen erzielten.

R. Pfeiffer (Schlußbemerkung): Zum Schluß dieser Diskussion möchte ich der lebhaften Befriedigung Ausdruck geben, daß die überaus große Mehrzahl der Diskussionsredner sich entschieden für die ätiologische Bedeutung der Influenzabazillen bei der pandemischen Form der Influenza ausgesprochen hat. Nur die Herren Kruse und Selter haben Bedenken geäußert. Den Einwänden des Herrn Kruse gegenüber möchte ich hervorheben, daß die gleichen Einwände auch gegen die Bedeutung der Ruhrbazillen als Ruhrerreger von verschiedenen Seiten vorgebracht worden sind, ohne daß man deswegen im Ernst an ihrer ätiologischen Bedeutung zweifeln wird. Die Annahme eines filtrierbaren Virus ist allseitig als nicht genügend experimentell gestützt zurückgewiesen worden. Interessant waren hier die Angaben des Herrn Kollegen Schmidt, der sehr zahlreiche Uebertragungsversuche mit Berkefeld-Filtraten am Menschen, im wesentlichen mit negativem Ergebnis angestellt und auf die zahlreichen und schwerwiegenden Fehlerquellen derartiger Versuche aufmerksam gemacht hat. Darüber bin ich mir klar, daß noch keineswegs alle Fragen auf dem Gebiete der Influenzaepidemiologie restlos gelöst sind, aber es fehlen uns offenbar zurzeit noch die Mittel, tiefer in diese schwierige Materie einzudringen, und wir müssen daher es der Zukunft überlassen, hier volle Klarheit zu schaffen.

9. Oktober 1920 nachmittags.

Vorsitzender: A. Gärtner (Jena).

7. Vortrag. Much (Hamburg):

### Fettantikörper.

[Erscheint in der Deutschen medizinischen Wochenschrift.]

### Diskussion.

Kolle (Frankfurt a. M.): Die Veröffentlichungen des Herrn Much über Partialantigene und Fettantikörper habe ich mit dem größten Interesse verfolgt. Herr Much

behauptet auf Grund von klinischen Erfahrungen und Erfolgen, daß bei der Behandlung der Tuberkulose mit der von ihm und Deycke angegebenen Methode der Partialantigene viel größere Heilerfolge gezeitigt werden, als mit irgendeinem anderen, aus Tuberkelbazillen gewonnenen Antigen. Die Heilerfolge, auf die Herr Much seine Schlüsse stützt, beruhen in kleinem Umfange auf Beobachtungen bei Lungentuberkulose, zum größeren auf chirurgischem Material.

Daß die Deutung der Heilerfolge bei der Behandlung der menschlichen Tuberkulose mit Partialantigenen schwierig ist, geht schon daraus hervor, daß nicht nur eine spezifische oder unspezifische Behandlung die Tuberkulose bessern bzw. heilen kann, sondern auch eine diätetische und klimatische Anstaltsbehandlung, Freiluftbehandlung, Sonnenbäder, Höhenkurorte etc. Wenn man nun aber annimmt, daß derartige Erfolge, wie sie Herr Much behauptet, sich beim Menschen mit seinen Partialantigenen erzielen lassen, so muß doch im Tierversuch auch eine gewisse Wirkung durch die Behandlung mit derartigen Antigenen nachweisbar sein. Die Tuberkulose der Meerschweinchen und der Kaninchen kann auch bei Benutzung wenig virulenter Kulturen experimentell außerordentlich chronisch gestaltet werden. Man kann so geringe und chronisch verlaufende Tuberkuloseinfektionen durch Verwendung wenig virulenter Kulturen setzen, daß sogar Spontanheilungen bei Meerschweinchen und Kaninchen, die mit bestimmten Tuberkelkulturen behandelt werden, beobachtet werden.

Warum werden nicht experimentelle Grundlagen für die Wirkung der Partialantigene bei Tieren geschaffen, bei denen sich eine ähnlich chronisch verlaufende Krankheit wie beim Menschen erzeugen läßt? Damit würde die ganze Frage aus dem Stadium der Behauptungen und Spekulationen herauskommen und wir würden einen festen Boden unter die Füße bekommen. Es würde mir interessant sein, von Herrn Much zu erfahren, warum er diesen experimentellen Weg, der bei so vielen anderen Infektionskrankheiten so große Erfolge gezeitigt hat, nicht beschritten hat. Es läge das nicht nur im wissenschaftlichen, sondern auch im praktischen Interesse, und nicht zum wenigsten im Interesse von Herrn Much selbst und der von ihm empfohlenen Tuberkuline.

Uhlenhuth: Meiner Ansicht nach ist der Nachweis von Fettantikörpern bisher nicht erbracht. Ich selbst habe schon auf der Leprakonferenz in Bergen (1909) auf Grund meiner Untersuchungen darauf hingewiesen. (Lepra Bibl. internat. Vol. 11. 1910.) Mit analysereinen Fetten aus Tuberkelbazillen haben Bürger und Möllers in meinem Straßburger Institut mit Hilfe der Intrakutanreaktion keine Antikörper nachweisen können. Auch mit durch Trichloräthylen dargestellten Wachsmassen der Tuberkelbazillen konnte eine Schutzwirkung nicht erzielt werden. (Uhlenhuth-Joetten, Deutsche med. Wochenschr. 1920. Nr. 32/33.)

Trotzdem ist es natürlich möglich, daß im Tierkörper Antikörper (Fermente) entstehen, die man bisher nicht nachweisen kann. Ein Effekt dieser supponierten Antikörper im Sinne einer Schutzwirkung ist aber im Tierversuch und beim Menschen bisher nicht nachweisbar gewesen (s. auch Beck).

Herr Much nimmt an, daß wir nur mit Tuberkelbazillenwachs immunisiert haben. Wir haben sowohl mit Wachs wie mit Eiweiß, und zwar mit massiven Dosen Tiere vorbehandelt — ohne jeden Erfolg.

Ob es Antikörper gibt oder nicht, ist aber schließlich gleichgültig; die Hauptsache ist die Frage, ob es Herrn Much gelingt, die Tuberkulose beim Menschen zu heilen. Ich sehe in den Muchschen Präparaten keinen Vorteil gegenüber dem Kochschen Neu-Tuberkulin, das auch viel schonender dargestellt ist.

Much (Schlußbemerkung): Die „wissenschaftliche Basis“ eines Heilverfahrens für den Menschen gibt zuerst der Mensch, dann eventuell das Tier. In vielen Fällen nur der Mensch. Jedenfalls in der Tuberkulose nicht das Meerschweinchen, das so und so viel Antikörper gar nicht zu bilden vermag. Die Institute sind ja zum größten Teil auf Meerschweinchen angewiesen. Aber unter der Armut der Institute soll die Wissenschaft nicht leiden. Dann sollen in dieser Frage die Institute die Arbeit einstellen und sie der Klinik überlassen.

Die Klinik ist fähig, die Frage zu beantworten, wenn sie sich all der biologischen Hilfsmittel bedient. Der Biologe muß für diese Fragen wieder Kliniker und der Kliniker muß zugleich Biologe werden. So ist nichts beweisender und exakter abzulesen als die Heilung einer Augentuberkulose. Gerade in der Augentuberkulose gibt es Fälle, die allen anderen Verfahren trotzen. Ebenso ist es mit vielen Fällen chirurgischer Tuberkulose (Drüsen!). Auch die Lungentuberkulose ist meßbar, wenn man jeden Fall gründlich nicht nur biologisch, sondern auch röntgenologisch verfolgt. Das wird leider viel zu wenig getan.

Aber es liegen auch sehr große Reihen von Tierversuchen vor. Siehe Much und Leschke in Brauers Beiträge, Bd. 30 (Festband) etc. Ich selber lege auch auf diese positiven Ergebnisse fast gar keinen Wert mehr.

Insofern interessieren auch die Uhlenhuthschen Versuche wenig. Aber sie sind außerdem mit selbstgewonnenen Fettstoffen angestellt. Es sind also Untersuchungen für sich. Ich habe immer wieder betont, daß längst nicht jedes Verfahren ein — reaktives — Partialantigen liefert.

Uebrigens: Wenn man die Tierversuche so dringend für die Partigene fordert, warum nicht für das Tuberkulin? Alle Tierversuche, die das Tuberkulin als Schutz- oder Heilmittel stützen könnten, haben bisher kläglich versagt! Trotzdem gebraucht man es. Und mit Recht. Was dem einen recht ist, ist dem anderen billig. Jedenfalls liegt für das Tuberkulin kein einziger positiver Tierversuch vor, für die Partigene schon sehr viele.

Endlich heißt es das Problem umkehren, wenn hier immer nur von Tuberkuloseimmunisierung gesprochen wird. Ich spreche von Fettantikörpern; und die bestehen, auch wenn die Partigene kein Tuberkuloseheilmittel wären. Daß die Fette allein Tuberkulose weder schützend noch heilend beeinflussen können, ist ja gerade eines der Grundgesetze der Partigenlehre. Alle, die das noch nicht verstanden haben, finden am schnellsten Aufklärung in meinem Buch: die Partigengesetze und ihre Allgemeingültigkeit (Kabitzsch).

### 8. Vortrag. Hetsch und Schloßberger (Frankfurt a. M.): Biologische Eigenschaften der bei der Wunddiphtherie gefundenen Diphtheriebazillen.

[Erschien in der Münchener medizinischen Wochenschrift 1920. Nr. 46.]

### 9. Vortrag. Dr. Weinert (Magdeburg) (a. G.):

#### Zur Pathologie und Klinik der Wunddiphtherie (mit Demonstrationen).

In Friedenszeiten ist Wunddiphtherie nur vereinzelt zur Beobachtung gekommen, in den Kriegsjahren sicherlich nicht immer erkannt worden. Häufung der Infektionen mit echten Klebs-Löfflerschen Bazillen bis zum Charakter von Epidemien (Magdeburg, Kiel) in der zweiten Hälfte 1918; Gründe hierfür nicht sichergestellt, ebensowenig wie bei der Grippe. Ueberstürzter Rückzug, mangelnde Reinlichkeit, ungenügende Körperpflege spielten wahrscheinlich eine wichtige Rolle, doch muß vielleicht auch an eine Aenderung der Konstitution infolge ungünstiger Ernährung gedacht werden (vgl. die neueren Arbeiten über Blutzuckergehalt bei Deutschen vor und nach dem Kriege; vergleichende chemische Untersuchungen von Wundsekreten werden zurzeit vorgenommen). Uebertragungen von Mensch zu Mensch, durch Bäder, Gebrauchsgegenstände konnten nachgewiesen werden.

Pathologisch-anatomisch kann man, ohne zu sehr zu schematisieren, folgende Formen der Wunddiphtherie aufstellen:

- 1) Kruppöse oder oberflächliche Form mit abziehbaren Pseudomembranen,
- 2) Diphtheritische oder Tiefenform mit Koagulationsnekrose des Granulations- oder des Unterhautzellgewebes; zwischen diesen beiden Formen alle Uebergänge.

- 3) Phlegmonöse Form; zu der Diphtheriebazilleninfektion gesellt sich eine Mischinfektion vornehmlich mit Staphylokokken, seltener mit Streptokokken, auch mit *Pyocyanus*.
- 4) Phlegmonös-gangränöse Form, Mischinfektion mit Staphylokokken, Coli-Bazillen und anderen Keimen (Anaërobiern?), deren Nachweis noch nicht gelungen ist. Diese selteneren schwersten Wundinfektionen wären in vorbakteriologischer Zeit wohl sicher dem Hospitalbrande zugerechnet worden.

Typisch für Wunddiphtherie ist ein „fressendes“, scharf umrandetes, mit feinem roten Saume umgebenes Geschwür, dessen Grund von abziehbaren Pseudomembranen bedeckt (kruppöse Form), oder von nekrotischem Granulationsgewebe gebildet wird (diphtheritische Form); die weitere Umgebung des Geschwürs ist häufig blaurot verfärbt und leicht ödematös, so daß hin und wieder Verwechslungen mit Erysipel unterliefen. Bei den phlegmonösen Formen kann es zu großen Abszedierungen der Haut (ganzer Oberschenkel und Rücken!) kommen, der Abszeßleiter enthält fast immer Staphylokokken, denen vielleicht der Diphtheriebazillus die Wege geebnet hat. (Primus inter pares?)

Auch auf normal aussehenden Wunden wurden häufig echte Diphtheriebazillen gefunden, ohne daß es später zu einer klinisch erkennbaren Wundinfektion kam (Bazillenträger!). Besonders gefährdet erscheinen schlecht ernährte Wunden, zerfallende Hauttumoren, Fisteln mit geringer Verschieblichkeit der Wundränder und vor allen Dingen junge Narben zu sein (Narbendiphtherie, Weinert); dann auch durch Röntgen- und Radium-Mesothoriumstrahlen geschädigte Hautbezirke (experimentelle Untersuchungen im Gange). Auf gesunder Haut scheinen Diphtheriebazillen wochenlang ohne schädliche Wirkung verbleiben zu können (Bazillenträger), ein winziger Kratzdefekt kann dann aber zur Wunddiphtheriepustel führen, die einer Milzbrandpustel ähnlich sieht und auch bereits mit ihr verwechselt wurde; im Inhalte dieser Pusteln konnten echte Diphtheriebazillen in Reinkultur festgestellt werden.

Klinisch betrachtet, zeigen nur die wenigsten Wunddiphtheriekranken schwere Allgemeinerscheinungen, z. B. Abgeschlagenheit, höhere Temperaturen; über stärkere Schmerzen wurde manchmal geklagt, vor allen Dingen aber über eigenartiges Brennen in den Wunden und Wundrändern, das womöglich mit der stark ätzenden, wässerigen, wenig eiterigen Wundabsonderung in Zusammenhang gebracht werden muß. Todesfälle selten, Todesursache in erster Linie Mischinfektionen, dann Herzschwäche oder Lähmungen (in Magdeburg nur eine Beobachtung dieser Art, in Kiel [Anschütz] mehrere). An Nachkrankheiten kamen Gaumensegellähmungen, Herabsetzung und Schwinden von Reflexen, Akkommodationsstörungen in verschiedenen Städten verschieden oft vor.

Heilung der schwersten Formen manchmal überaus lange (Monate!) dauernd, bei einigen Wunddiphtherien jede Therapie bisher machtlos. Serum in hohen Dosen war nur zu vereinzelt Malen wirksam, vielleicht muß hierbei dem Serum auch als Träger artfremden Eiweißes eine Rolle beigemessen werden; jetzt wird in Magdeburg Diphtherieserum nur bei ganz schweren Wundinfektionen oder bei Komplikationen mit Rachendiphtherie (im Anfang der großen Epidemie 10 Proz. aller Wunddiphtheriekranken) gegeben. Von antiseptischen Mitteln wirkt am besten die Pinselung der Granulationen mit hochprozentiger Jodtinktur (unter peinlicher Schonung der umgebenden Haut). Alle anderen Mittel dieser Gruppe, auch Trypaflavin, leisteten viel weniger. In letzter Zeit

gelang es mit Höhensonnenintensivbestrahlung (Bestrahlung aus 20 bis 25 cm Entfernung mit 5 Min. beginnend, unter genauester Abdeckung der Haut) und offener Wundbehandlung (auf Anraten Neissers, Frankfurt) die Heilungsdauer bedeutend herabzusetzen; doch muß auch auf die abnehmende Schwere der Infektion — wie sie ja bei anderen Infektionskrankheiten bekannt ist — hingewiesen werden. Für die Friedenschirurgie wichtig sind jene Infektionen, die sich an völlig aseptische Operationen angeschlossen haben (vgl. z. B. Arbeit von Harms, Münch. med. Wochenschr. 1920).

Eine große Reihe von Lichtbildern und Aquarellen ergänzen die Vorführungen des Vortragenden.

#### Diskussion.

Lubinski (Breslau) (a. G.) hebt hervor, daß eine sichere Unterscheidung zwischen echten Diphtheriebazillen und Diphtheroiden nach den in Breslau gemachten Erfahrungen nur durch die Prüfung ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Kohlehydraten, vor allem der Saccharose, möglich ist. Die mikroskopische Untersuchung allein genügt bei der Wunddiphtherie wegen des Fehlens eines typischen klinischen Bildes ganz und gar nicht.

Prausnitz (Breslau): Die Serumbehandlung der Wunddiphtherie ist deshab öfters nicht genügend wirksam erschienen, weil das Serum subkutan, intravenös oder intramuskulär angewandt wurde, wobei an den Krankheitsherd nur sehr geringe Antitoxinmengen vordringen können. Die richtige Behandlung in allen diesen Fällen ist die örtliche Serumanwendung — im frühen Stadium, solange die Wunde tiefe, buchtige Höhlen aufweist, mit Tampons, die in flüssigem Serum getränkt worden sind — bei beginnender Heilung mit fein gepulvertem Trockenserum. — Hiermit sah ich in 3 Fällen, darunter einem sehr schweren Fall von diphtherischer Mastitis, raschen Erfolg. Da aber in allen diesen Fällen, auch den scheinbar leichtesten, die Gefahr einer Diphtherietoxikose (Muskellähmungen, Herzstörungen, Nephritis) besteht, so muß stets außerdem Diphtherieserum intramuskulär in großen Dosen gegeben werden.

Petruschky: Es ist mehr als 20 Jahre her (1898), daß ich zwei Beobachtungen über das Krankheitsbild „Noma faciei“ und „Noma vulvae“ gemeinsam mit Freymuth aus dem Danziger Stadtkrankenhaus veröffentlicht<sup>1)</sup>, bei denen beidemale „Diphtherie“-Bazillen als die wesentlichen Gewebszerstörer nachgewiesen wurden und beidemale unter Anwendung außerordentlicher Dosen Diphtherieserum Heilung, wenn auch mit erheblichen Defekten, erzielt wurde. — Der Krankheitsprozeß machte bei der Gesichtserkrankung nicht am Knochen Halt, sondern zerstörte einen Teil des Unterkiefers. Bei der Heilung wurde ein Sequester mit mehreren Zähnen abgestoßen. — Auch bei einem Falle von Wunddiphtherie nach Amputation eines Fußes machte die Zerstörung nicht am Knochen Halt.

Daß die Mitteilung weiterer Fälle von Wunddiphtherie mehr als 20 Jahre hat warten lassen, dürfte zum Teil daher rühren, daß die Chirurgen ihr „septisches Material“ nicht häufig genug bakteriologisch untersuchen lassen. Es ist bisher wohl viel wertvolles Material dadurch verloren gegangen.

#### W. Kolle:

Abel: Fälle von Wunddiphtherie sind seit der anti- und aseptischen Zeit sehr selten gewesen, so daß sie einzeln beschrieben worden sind. Man kann auch nicht annehmen, daß die Chirurgen derartige Fälle verkannt hätten. Vielmehr muß eine Vermehrung der Fälle in den letzten Jahren eingetreten sein, wofür die Ursache, abgesehen vielleicht von verminderter Widerstandsfähigkeit durch Ernährungsmängel, nicht klar liegt. Wir haben im letzten Jahre viele Fälle diphtherischer Nabelinfektionen bei Neugeborenen in einer Klinik beobachtet, meist ohne Krankheitserscheinungen. Es wird sich empfehlen, in großem Maßstabe auch nicht klinisch diphtheriebefallene Wunden einmal auf ihren Diphtheriebazillengehalt zu untersuchen, um über die Infektionsverhältnisse Aufschluß zu erhalten.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1898, No. 15 u. 38.

**Bitter:** Die Wunddiphtherie fiel in Kiel mit einer starken allgemeinen Häufung von Diphtheriefällen zusammen. Die von mir aus Wunden isolierten zahlreichen Diphtheriestämme verhielten sich morphologisch, kulturell und im Tierversuch regelrecht. Außer echten Diphtheriebakterien sind nicht selten völlig avirulente aus Traubenzucker Säure bildende diphtherieartige Stäbchen und Pseudodiphtheriebakterien isoliert worden. In derselben Wunde fanden sich gelegentlich alle drei Formen oder zwei von ihnen neben- oder hintereinander.

In Kiel sind systematische Untersuchungen über die Frage angestellt, ob die Wunddiphtheriekranken auch auf den Schleimhäuten (Hals, Nase, Vagina) Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebakterien beherbergten. Bei einer größeren Anzahl von Personen wurden dabei positive Diphtheriebefunde erhoben, ohne daß die betreffenden Schleimhäute sichtbare Zeichen der bestehenden Ansiedlung dargeboten hätten.

**Plaut (Hamburg)** hat nach der Magdeburger Epidemie sechs Hautfälle aus der Chirurgischen Klinik in Eppendorf und einen Fall aus der Stadt wegen Diphtherieverdachts untersucht. Die 6 Eppendorfer Fälle enthielten keine echten Diphtheriebazillen, der aus der Stadt Diphtheriebazillen, die aber beim Meerschweinchen sich als avirulent erwiesen. Ein anderer Fall am Oberschenkel bei einem 16-jährigen Mädchen von ganz ähnlichem Aussehen wie die vom Vortragenden gezeigten Hospitalbrand-ähnlichen Fälle, mit tiefem Ulcus auf einer Tonsille enthielt keine Diphtheriebazillen, sondern die fusospirilläre Symbiose. Durch Salvarsan kam die äußerst gefährdete Patientin schnell zur Heilung. Der Fall wird in der Deutschen medizinischen Wochenschrift veröffentlicht. Plaut rät, in allen solchen Fällen auf den typischen Geruch zu achten, und fragt den Vortragenden, ob in den berichteten Fällen der üble Geruch vorhanden war, auch ob in jedem Fall die mikroskopische Untersuchung der gefärbten Objektträgerausstriche neben der Kultur ausgeführt worden sei, ohne die die fusospirilläre Symbiose stets übersehen wird.

**Weinert (Schlußwort)** bemerkt auf die Anfrage Plautes, daß er im Objektträgerabstrich von Diphtheriewunden bisher keine fusiformen Stäbchen oder Spirillen nachweisen konnte, wohl aber häufig Bazillen mit Polkörnchen; er wird in Zukunft sein Augenmerk erneut auf solche Untersuchungen richten.

## 10. Vortrag. Bitter (Kiel):

### Die Aetiologie und Epidemiologie des Paratyphus B und der sogenannten Fleischvergiftungen.

[Ist inzwischen unter dem Titel: „Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein“ in diesem Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. S. 110 erschienen.]

#### Diskussion.

**Uhlenhuth:** Wir unterscheiden bei den meist nicht von Person zu Person ansteckenden akuten Fleischvergiftungen die Paratyphus B- und die Gärtner-Gruppe, die sich nicht kulturell, wohl aber serologisch trennen lassen (Uhlenhuth). Zu ersteren gehören der B. febr. gastric. (Kurth), der B. Flügge-Kaensche (Breslau), Meirelbeck, Düsseldorf, Sirault, Aertryck, Neunkirchen, Greifswald.

Dazu kommen der Mausetyphus, Hogcholera, Psittacosis B.

Der als Erreger der von Mensch zu Mensch übertragbaren typhusähnlich verlaufenden Paratyphuserkrankungen festgestellte B. paratyphi B läßt sich nach unseren Untersuchungen nicht sicher von den übrigen Paratyphusbazillen unterscheiden, auch nicht durch den Castellianischen Absättigungsversuch und nicht durch den Tierversuch, wenn man eine größere Anzahl verschiedener Stämme prüft. Bezüglich der Pathogenität für Mäuse bestehen starke Schwankungen.

Auch aus normaler Wurst gezüchtete Paratyphus B-Bazillen, die für Menschen nicht pathogen waren, sowie Schweinepestbazillen und Paratyphusbazillen aus normalem Schweinedarm töteten Mäuse bei einmaliger Fütterung ebenso wie Mausetyphusbazillen.

Auch die aus menschlichem Paratyphus gezüchteten Stämme können Mäuse töten; ihre Virulenz für orale Infektion kann auch durch subkutane Infektion der Mäuse gesteigert werden. Unser Greifswalder Fleischvergifter, der vollkommen avirulent geworden war, konnte durch subkutane Mäusepassage wieder virulent und toxisch gemacht werden.

Als eine bemerkenswerte Tatsache muß bezeichnet werden, daß nach Beobachtungen im Gesundheitsamt ein Glässer-Voldagsen Antiserum Pestifer-Stämme ebenso hoch agglutiniert, nicht dagegen die menschlichen Paratyphusstämme und umgekehrt. Doch auch dieses Merkmal ist nicht konstant. Alle Stämme dieser Gruppe verhalten sich agglutinatorisch und kulturell sehr labil.

Die von der Kieler Schule betonte Differenzierung des echten Paratyphus B und Paratyphus Breslau (Flügge-Kaensche) auf Grund der bei ersteren beobachteten „Wallbildung“ und „Knöpfchenbildung“ und seiner fehlenden Mäusepathogenität erscheint mir noch nicht genügend sichergestellt.

Jos. Koch: Als Hygieniker einer Heeresgruppe hatte ich Gelegenheit, während des Frühjahrs 1917 an der Siebenbürgisch-rumänischen Front im Oitospaß Massenerkrankungen von Paratyphus B-Infektionen zu beobachten, die in der Arbeit meines Mitarbeiters Kwasniewski „Zur Epidemiologie des Paratyphus B im Felde“, Arch. f. Hyg. Bd. 88. 7. und 8. Heft erwähnt sind. Die Erkrankungen verliefen teils unter dem Bilde einer heftigen Gastroenteritis, einzelne sogar unter choleraähnlichen Erscheinungen, teils unter dem Bilde der chronischen typhösen Form, welche die Mannschaften wochenlang aufs Krankenlager warf. Sämtliche Krankheitsbilder waren durch den Paratyphus B-Bazillus hervorgerufen, der sowohl in den Entleerungen als auch im Blute der Kranken in übereinstimmender Weise in unseren und den Laboratorien der österreichisch-ungarischen Armee festgestellt wurde. Die Paratyphus B-Massenerkrankungen verschiedener Honvedformationen führe ich darauf zurück, daß diese Truppenteile mitgeführtes Vieh selbst schlachteten, und zwar oft Tiere, die infolge der Strapazen, der herrschenden Maul- und Klauenseuche stark heruntergekommen waren und notgeschlachtet werden mußten.

Reichenbach (Göttingen) erwähnt eine von ihm in der letzten Zeit in Göttingen beobachtete Paratyphusepidemie, die durch Fischehälften hervorgerufen war. Die Sülze war am Sonnabend gekocht, am Montag verzehrt worden, so daß die bei der Zubereitung hineingelangten Bazillen reichliche Gelegenheit zur Vermehrung hatten. Es erkrankten 9 Personen und zwar zunächst mit gastrointestinalen Symptomen, an die sich einige Tage später die eigentliche Typhuserkrankung anschloß. Der Erreger war ein echter Paratyphus B-Bazillus, der in der Fischehälften und in den Fäzes (bei einigen Fällen auch im Urin der Erkrankten) gefunden wurde, und zwar bei einzelnen Fällen monatelang.

Gildemeister:

Pfeiler (Jena): Eine strenge Unterscheidung bestimmter Typen innerhalb der Coli-Typhus-Gruppe ist heute möglich. Wenn einige Ausnahmen vorhanden sind, so bestätigen sie die Regel. Vom systematischen Standpunkte aus dürfen diese Unterscheidungsmerkmale nicht außer acht gelassen werden. Denn sie erschließen uns das Verständnis für die verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb der Gruppe.

Mit Hilfe des Ferkeltyphus-(Voldagsen-)Serums sind z. B. die echten Para B-Stämme von dem Typus zu trennen, der als Suipestifer (Sekundärbakterie bei Virus-schweinepest) zu bezeichnen ist. Es werden zwar auch beim Menschen solche Stämme gefunden, die vom Suipestifer-Serum beeinflusst werden. Die Regel ist dies aber nicht. Bei Schweinen ist das Umgekehrte auch gelegentlich der Fall. Bei dieser Tierart überwiegt jedenfalls der B. suipestifer, der durch Ferkeltyphusserum hochgradig agglutiniert wird, nicht aber durch Para-B-Serum.

Der neuerdings bei Menschen in Anatolien gezüchtete B. Erzindjan ist ein Vertreter, der durch Suipestifer- und Ferkeltyphusserum hoch beeinflusst wird. Er mit dem B. suipestifer zusammen bildet eine besondere, durch Ferkeltyphusserum beeinflussbare Gruppe; er ist gewissermaßen der menschenpathogene Vertreter des Suipestifer-Typus, mit dem er biochemisch, wenigstens was seine Leistungen auf der bunten Reihe anlangt, übereinstimmt, während der Ferkeltyphusbazillus biochemisch dem menschlichen Typhusbazillus sehr nahe steht, ohne daß er durch Typhusserum angegriffen wird. Ebenso wie die Gärtner-Gruppe als besondere Gruppe geführt wird, ist Erzindjan, Suipestifer und Ferkeltyphus abzuspalten. Uebergänge, wie sie



überall in der Gruppe vorhanden sind, sind beispielsweise auch in der Gärtner-Gruppe vorhanden.

Vieles, was auf Grund oberflächlicher Prüfungen in einzelnen Instituten als identisch oder nicht zusammengehörig erscheint, ist es nicht. Es liegt dies daran, daß nicht systematisch und mit den Vertretern aller in Frage kommenden Gruppen geprüft wird.

Bezüglich des Ferkeltyphus ist auch auf die hervorragende Ähnlichkeit im klinischen und anatomischen Bilde mit dem menschlichen Typhus hinzuweisen. Auch in der Immunisierungsfrage tritt diese Ähnlichkeit hervor. Beweisend für die Möglichkeit einer wirksamen Immunisierung mit Vertretern dieser Gruppe, also auch gegen menschlichen Typhus, sind die Immunisierungsversuche gegen Ferkeltyphus mit abgetöteten Bazillen. Für das Studium des menschlichen Typhus sind die Arbeiten mit dem Ferkeltyphusbazillus das gegebene Analogon.

Rimpau: Den Auffassungen Bitters muß widersprochen werden.

Es gibt Fleischvergiftungsepidemien infolge Notschlachtung mit Bildern der klinischen Fleischvergiftung und des Typhus, ja anfänglich mehrtägige Fleischvergiftungserkrankungen können nach mehrtägiger anscheinender Genesung in einen mehrwöchigen Typhus übergehen.

Zweitens liegen auch die Agglutinationsverhältnisse viel verwickelter, als es Bitter annimmt. Wie verwickelt die Verhältnisse sind, beweisen die vergleichenden Agglutinationsversuche mit Seren, die wohl mit einem Par. B-Stamm, aber an verschiedenen Kaninchen hergestellt wurden und worüber im Arch. f. Hyg. Bd. 76 u. 79. von mir und Keck berichtet wurde.

Vom Paratyphus C ist es in den letzten Jahren so still geworden. Und das mit Recht. Derartige, bei dem ersten Versuche anscheinend inagglutinabele Stämme können in der Regel noch als agglutinable Paratyphus B-Stämme identifiziert werden, wenn man mehrere Seren mit verschiedener Reichweite anwendet. Ein sogenannter Paratyphus C einer Göttinger Epidemie konnte auf diese Weise als Paratyphus B einwandfrei nachgewiesen werden.

Miessner (Hannover): Die Paratyphosen beanspruchen in der Veterinärmedizin ein ganz besonderes Interesse deswegen, weil sie als Erreger von Krankheiten, vornehmlich der jungen Kälber, Ferkel und gelegentlich auch des Geflügels angesehen werden müssen. Hierzu kommt neuerdings noch das Bact. paratyphi abortus equi, welches in Deutschland als Erreger des Verfohlens zuerst von Miessner und Berge ermittelt worden ist. Die Unterscheidung der einzelnen Typen aus der Paratyphusgruppe bereitet häufig große Schwierigkeiten, weil zweifellos Uebergänge bestehen, auch die Herstellung der Nährböden, besonders bei dem jetzigen Mangel an Rohstoffen, sich nicht immer so einwandfrei gestaltet, wie das früher der Fall gewesen ist.

Wagner: Während meiner früheren Tätigkeit in Kiel habe ich Gelegenheit gehabt, die Abtrennung der Paratyphus B-Bakterien als Erreger einer typhösen Erkrankung von den ihnen serologisch und in den chemischen Leistungen nahe stehenden, aber durch Kulturmerkmale und Fütterungsversuch unterscheidbaren Enteritiserregern des Typus „Aertryck“ (Breslau) in vielen Fällen vorzunehmen. Ich möchte in diesem Sinne hier nur die Ergebnisse einer 1913 begonnenen, die Fütterungspathogenität betreffenden, systematischen Versuchsreihe anführen, deren Fortführung durch den Kriegsausbruch verhindert wurde. Es wurden an je 2 Mäuse 24-stündige Agarkulturen von je 7 im Kieler Untersuchungsamt als Bact. paratyphi B bzw. Bact. enteritidis „Breslau“ bezeichneten Stämmen, ferner aber von einer Anzahl in der Literatur als Erreger von akuten Massenerkrankungen an Durchfall, Erbrechen usw. beschriebenen und als Paratyphus B-Bakterien bezeichneten Stämmen, und zwar: 4 Stämme aus Osnabrück (beschrieben von Otto, Berl. klin. Wochenschr. 1913. S. 1859), 3 Stämme aus Posen (beschrieben von Symanski und Günther, Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1913. S. 693) und schließlich 1 aus Newawasser gezüchteter Paratyphus B-Stamm (beschrieben von Horowitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Orig. Bd. 38. S. 527) unter Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln verfüttert. Im Laufe von 4–14 Tagen verendeten sämtliche Mäuse, die mit den Kieler Enteritisstämmen, ferner den Osnabrücker und Posener Stämmen gefüttert waren. In allen Fällen wurden die Keime aus dem Herzblut wieder gezüchtet. Alle mit den Kieler B-Stämmen gefütterten Tiere waren ebenso wie die Kontrollmäuse nach 4 Wochen noch am Leben und anscheinend gesund. Auch der aus Newawasser gezüchtete Stamm, der sich übrigens auch durch Wallbildung und Knöpfe auf Raffi-

noseagar als echtes *Bact. paratyphi* B erwies, war für Mäuse bei Fütterung unschädlich.

Meine Ergebnisse bestätigen also nicht nur die in Kiel bewährten Unterscheidungsmerkmale zwischen beiden Typen, sondern sie scheinen auch darauf hinzuweisen, daß ihnen nicht nur etwa eine lokale oder regionale Gültigkeit zukommt.

## 11. Vortrag. Wagner:

### Zur biologischen Bewertung der Typhoideen.

Der Krieg hat eine Erweiterung unserer Kenntnisse über die Typhoideen namentlich dadurch bewirkt, daß das *Bact. paratyphi* A, das vordem in Deutschland wenig bekannt war, nunmehr nicht selten gefunden wurde. Es ist bekannt, daß schon in der ersten Kriegszeit eine Para-A-Epidemie in Wiblingen bei Ulm auftrat, und daß später von allen Fronten A-Fälle gemeldet wurden. E. Lehmann (Tübingen)<sup>1)</sup>, der die Epidemie in Wiblingen eingehend erforscht hat, hat weiterhin sich mit dem *Bact. paratyphi* A in mehrfachen Untersuchungen epidemiologisch-bakteriologischer Art befaßt. In epidemiologischer Hinsicht ist er zu dem wohl heute allgemein anerkannten Ergebnis gekommen, daß das A-Bakterium ein Bewohner wärmerer Zonen ist und infolge der durch den Krieg bewirkten Wanderungen zahlreicher Bewohner dieser Gegenden nach Mitteleuropa eingeschleppt wurde. In bakteriologischer Hinsicht hat Lehmann betont, daß das A-Bakterium von seinen bei uns bekannten Verwandten sich nicht nur in seiner pathogenen Wirkung unterscheidet (in der es dem Typhus nahesteht), sondern auch biologisch, insofern seine chemischen Leistungen und Fähigkeiten ihm einen Platz zwischen dem Typhus und dem B-Bakterium einräumen. Lehmann hat weiter von dem omnivoren *Bact. coli* bis zu dem in seinen Ernährungsansprüchen sehr wählerischen *Bact. typhi* eine fortlaufende Stufenleiter aufgestellt, auf der das B-Bakterium dem obenan stehenden *Bact. coli* folgt und das A-Bakterium die Mittelstellung zwischen B. und *Bact. typhi* einnimmt. Lehmann begründet diese Skala mit dem mehr oder weniger ausgebildeten Vermögen der betreffenden Arten, die ihnen gebotenen Nährstoffe zu nützen: und zwar zeigte sich das hauptsächlich bei den Kohlehydraten, die von den genannten Bakterien um so stärker angegriffen werden, je näher sie dem *Bact. coli* als Typus des omnivoren Bakteriums stehen. Lehmann schließt weiter, daß die Bakterien, deren Fähigkeiten in der Ausnutzung der Nahrung vielseitiger sind, in ihrem Existenzkampf gegenüber denen, die auf bestimmte Kraftquellen angewiesen sind, im Vorteil sind: daraus wäre also das saprophytische Fortkommen des *Bact. coli* zu erklären, während das Typhusbakterium außerhalb des menschlichen Körpers nur kurze Zeit existieren könne, den Paratyphusarten und im besonderen dem B-Bakterium aber ein halbsaprophytischer Charakter zukomme.

Diese biologische Bewertung der Typhoideen würde sich mit unseren Erfahrungen hinsichtlich ihrer Pathogenität wohl vereinigen lassen, insofern ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Pathogenität und biologischer Wertigkeit, wenn ich mich so ausdrücken darf, anzunehmen

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 81. S. 275.

wäre; sie erscheint daher bedeutungsvoll genug, um ihre Grundlagen eingehend zu untersuchen.

Ich habe — unter Beiseitelassung des *Bact. coli* — die Fähigkeit der Typhoideen, Kohlehydrate und mehrwertige Alkohole anzugreifen, also ihr Gärvermögen in einer kürzlich in der Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 90. S. 37 veröffentlichten Arbeit einer Prüfung unterzogen, die auch einen quantitativen Vergleich ermöglichte, und ein deutliches Absinken der Gärfähigkeit innerhalb der Reihe der Typhoideen festgestellt, und zwar nicht nur, wie längst bekannt, insofern, als das *Bact. typhi* aus keinem Kohlehydrat gasförmige Produkte abzuspalten imstande ist, sondern auch insofern, als zwischen den beiden Paratyphusarten regelmäßige Unterschiede bestehen, und zwar einmal geringe qualitativer Hinsicht, insofern das *Bact. paratyphi A* im Gegensatz zum B-Bakterium Xylose und Inosit nicht unter Gasbildung zu zerlegen imstande ist [was von der Xylose übrigens schon bekannt war — Bieling<sup>1)</sup>], sondern auch regelmäßig solche quantitativer Art, insofern das B-Bakterium anscheinend aus allen ihm überhaupt zugänglichen Kohlehydraten und Alkoholen mehr Gas bildet, als das A-Bakterium. Das tritt besonders deutlich bei der Arabinose, Dextrose, Galaktose, Mannose, Lävulose und Maltose, sowie beim Mannit, Dulzit und Sorbit hervor. Hinsichtlich der Säurebildung erhielt ich mit dem in der genannten Arbeit beschriebenen, nur einem orientierenden Vergleich dienenden Verfahren keine deutlichen Unterschiede für die beiden Paratyphusarten.

In der durch die stärkere Gasbildung zum Ausdruck kommenden besseren Nützung der Kohlehydrate und Alkohole seitens des B-Bakteriums scheinen also die Voraussetzungen der Lehmannschen These eine Stütze zu finden. Aber es sind mir weiterhin doch Zweifel aufgestiegen, ob die geschilderten Tatsachen ohne weiteres zu den in der Lehmannschen These ausgesprochenen Schlüssen berechtigen.

Im Sinne Lehmanns müßte man sich wohl vorstellen, daß dem einzelnen Bakterium der verschiedenen Typen ein schwächeres bzw. kräftigeres enzymatisches Vermögen gegenüber den Nährstoffen zukäme, wobei es im Sinne einer Abstufung von dem nur Säure, aber kein Gas bildenden Typhusbakterien bis zu den aus vielen Zuckern Säure und Gas abspaltenden Kolonbakterien läge, daß aus den Enzymen, die wir ja nach neueren Anschauungen als bei dem Vorgang der Gärung nacheinander in Tätigkeit tretend uns vorstellen, dem Paratyphus A das eine oder andere bei der Gasbildung beteiligte fehlte, während es beim B vorhanden ist. Es würde also mit anderen Worten der Abbau des Zuckers durch das B-Bakterium ein weitergehender sein, als durch das A-Bakterium. Eine Bestätigung dieser Ansicht wäre von einer chemischen Analyse der Gärprodukte zu erwarten, die, wie die für das *Bact. coli* vorliegenden Untersuchungen zeigen, große Schwierigkeiten und Fehlerquellen bietet.

Es wäre aber hinsichtlich der quantitativen Unterschiede bei A und B auch eine andere Möglichkeit denkbar, daß nämlich die mehr oder weniger starke Gasbildung nur der Ausdruck eines mehr oder weniger starken Wachstums, also einer mehr oder weniger starken Vermehrung der in den betreffenden Nährböden eingebrachten Keime wäre. Der Unterschied in der Fähigkeit, sich zu vermehren, könnte seinerseits

1) Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 531.

wieder zwei Gesichtspunkten unterstellt werden: einmal ist mit den das Wachstum beeinflussenden Gärprodukten zu rechnen. Wir wissen von der alkoholischen Hefegärung, daß die Hefen in dem gebildeten Alkohol absterben, ebenso kann die bei der H-Gärung der Paratyphusarten gebildete Säure wirken; es wäre also möglich, daß die Empfindlichkeit des A-Bakteriums gegen Säure eine höhere wäre, als die des B-Bakteriums, das mithin dem Wachstum des ersteren und damit auch weiterer Gasentwicklung eine zeitigere Grenze gesteckt wäre. Andererseits wäre aber auch denkbar, daß überhaupt — also auch ohne Beeinflussung durch Gärprodukte — die Fähigkeit der einzelnen Arten der Typhoideen, sich zu vermehren und ihr Leben zu fristen, eine ungleiche wäre. Für die letztere Annahme spricht die Tatsache, daß die anfängliche Vermehrungsgeschwindigkeit der Typhus- und Coli-Bakterien erhebliche Unterschiede zeigt. F. H. Hehewerth<sup>1)</sup> hat nämlich festgestellt, daß die Coli-Bakterien unter gleichen Bedingungen sich fast anderthalbmal so schnell vermehren, wie die Typhusbakterien. Die Annahme, daß die vitale Energie, deren schärfster Ausdruck ja die Vermehrungsfähigkeit ist, bei den einzelnen Typhoideen von ungleicher Stärke ist, erscheint also im Bereiche der Möglichkeit.

Zu dieser Frage habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, die, wenn sie auch wegen der mit Keimzählungen stets verknüpften erheblichen Fehlerquellen und weiterer im Verlaufe des Versuchs sich einstellender, später zu erwähnender Schwierigkeiten keineswegs beanspruchen können, eine endgültige Entscheidung zu bringen, doch wohl zur Bewertung der biologischen Stellung der Typhoideen beitragen können.

Ich habe zunächst Wachstum und Ueberleben des *Bact. typhi*, des *Bact. paratyphi A* und des *Bact. paratyphi B* in einer einfachen Pepton-NaCl-Lösung (also unter Weglassung eines jeden Kohlehydrates) zahlenmäßig geprüft. Es stehen mir 3 derartige Versuchsreihen zur Verfügung; in jeder war ein Typhus, ein A- und ein B-Stamm vertreten, bei deren Auswahl im Alter der Kulturen liegende Fehlerquellen zu vermeiden versucht wurden. Ich nahm vom *Bact. typhi* einen gut ausgeprobten Laboratoriumsstamm, ferner einen frisch aus dem Blut und schließlich einen frisch aus dem Stuhl einer Bazillenträgerin gezüchteten Stamm. Vom *Bact. paratyphi A* standen mir allerdings nur ältere Stämme zur Verfügung, der jüngste war vor 1½ Jahren von mir aus Blut isoliert. Vom Paratyphus B wählte ich 2 ältere Laboratoriums-(Blut-)Stämme, ferner einen frischen Stuhlstamm, sämtlich aus Fällen mit typhösem Verlauf der Krankheit.

Es wurden möglichst gleiche Mengen der einzelnen Stämme in die Nährlösungen gebracht und die Zahl der entwicklungsfähigen Keime bei der Einsaat, dann in kürzeren, später in weiteren Zeitabständen geprüft.

Zu der Technik des Zählens ist zu bemerken, daß die aus der Nährlösung entnommene, möglichst genau abgemessene Menge von 0,1 ccm in Meßkolben mit steriler NaCl-Lösung so stark verdünnt wurde — meist 1:1000000 —, daß die angelegten 3 Zählplatten nur eine makroskopisch bequem zu zählende Menge von Kolonien aufwiesen. Es waren also für jeden Keim gute Entwicklungsmöglichkeiten vorhanden. Als Zählplatten dienten Nähragarplatten, die oberflächlich mit den aus den Meßkolben entnommenen Mengen — in der Regel 0,2, 0,1 und 0,05 ccm — beschickt wurden. Nach Verteilung der Flüssigkeit mittels Glasspatels erfolgte Trocknung der Platten im Faust-Heimschen Apparat, 24-stünd. Bebrütung bei 37° und Zählung.

1) Arch. f. Hyg. Bd. 39. S. 321.

Die so gefundenen Zahlen habe ich in nachstehender Tabelle vereinigt:

Versuch Nr.	Stamm	Ein- saat	Zahl nach							
			6—8 <sup>a</sup>	24—30 <sup>a</sup>	49—54 <sup>a</sup>	75—78 <sup>a</sup>	104 <sup>a</sup>	199—201 <sup>a</sup>	441—463 <sup>a</sup>	700—800 <sup>a</sup>
			in Millionen im ccm							
I	Ty. Kiel-Labor.	1,76	22	241	142	46	45	52	3	4
	A Kiel	2,8	33	427	214	248	118	59,5	12	41
	B Kiel 514	1,8	51	511	200	207	214	268,5	209	68
II	Ty. Jena, frisch aus Blut	0,237	5,8	335	236	165	88	33	—	2,25
	A Warschau 956	0,438	9,8	482	—	313	329	151	—	13,5
	B Kiel 6693	0,356	9,8	630	—	335	242	184	—	26
III	Ty. Jena, Baz.- Trägerin	4,52	16,5	82	56,5	—	—	8,6	5,5	—
	A Warschau 1263	8	42,5	177	250	—	—	132	33	—
	B Jena-Stuhl	6,88	133,5	221	265	—	—	145	92	—

Vergleichbar sind — streng genommen — nur die einzelnen Versuche in sich, da nur bei ihnen eine Gewähr für wirkliche Uebereinstimmung in den äußeren Bedingungen, z. B. in der Temperatur des Brutraums, vorhanden ist, und auch die Einsaatmengen nur innerhalb der einzelnen Versuche einigermaßen übereinstimmen.

Es zeigt sich nun in jedem der drei Versuche, daß die erreichten Höchstziffern beim Typhusbakterium erheblich niedriger sind als beim B-Bakterium, während der A-Keim eine Zwischenstellung einnimmt, die dem B-Keim näher zu liegen scheint als dem Typhusbakterium. Das Maximum lag jedesmal zwischen 24 und 54 Std. Nach Erreichen dieses Maximums kommt es in den Kulturen offenbar zu einem starken Nachlassen der Vermehrung oder jedenfalls zu einem Ueberwiegen des Absterbens und zwar gleichfalls in charakteristischer Weise, insofern bei längerer Beobachtung die Zahl der überlebenden B-Keime stets die der Para A und diese wieder die des Bact. typhi deutlich überträgt, und zwar nicht nur absolut, sondern auch im Verhältnis zu den erreichten Höchstziffern. Die Reaktion war dabei stets neutral, schließlich schwach alkalisch. Man muß also wohl annehmen, daß wenigstens in einer Pepton-NaCl-Lösung die vitale Energie, gemessen an der Vermehrungsfähigkeit und der Fähigkeit, das Leben zu fristen, mit einer gewissen Gesetzmäßigkeit von B- über das A- zum Typhusbakterium abfällt, wobei natürlich im Auge zu behalten ist, daß wir es nicht mit Einzelindividuen, sondern mit „Populationen“ zu tun haben.

Weitere Versuche, mit gleicher Versuchstechnik das Verhalten der 3 Typen gegenüber Kohlehydraten zu studieren — ich wählte eine Traubenzuckerpepton-NaCl-Lösung, erwiesen sich als nicht in entsprechender Weise durchführbar. Es zeigte sich nämlich in allen Kulturen nach etwa 36-stündiger Bebrütung eine spontane Verklumpung der Bakterien, die ein Zählen natürlich zur Unmöglichkeit macht, da eine Sicherheit, ob einzelne Individuen oder Klümpchen gezählt werden, nicht besteht. Immerhin gab das Anwachsen der Stämme bis zum Eintritt der Verklumpung ein den oben erwähnten entsprechenden Zahlen ähnliches Bild, wie folgendes Protokoll zeigt:

Stamm	Einsaat	Zahl nach				
		7 <sup>h</sup>	24 <sup>h</sup>	48 <sup>h</sup>	264 <sup>h</sup>	720 <sup>h</sup>
		in Millionen im ccm				
Ty. Kiel-Labor.	1	18,5	185	} Verklumpung	} < 0,01	} 0
A Kiel	3,8	105	235			
B Kiel 514	1,42	302	510			

Anstieg und Zahl nach 24 Std. halten sich mithin auch hier im gleichen Verhältnis wie bei den ersten Versuchen.

Die Verklumpung scheint auf dem Gipfel der Entwicklung einzutreten. Es liegt nahe, sie mit der aus dem Traubenzucker gebildeten Säure, die etwa 2 ccm Normallauge auf 100 ccm Kulturflüssigkeit betrug, in Verbindung zu bringen, sie also als eine Säureagglutination aufzufassen und in ihr eine Abwehrreaktion zu sehen. Denn nimmt man trotz der unvermeidlichen Unsicherheit weitere Zählungen vor, so erhält man Zahlen, die ein schnelles Absterben der Keime zur Gewißheit machen. So fand ich nach 264 Std. (11 Tagen) bei allen 3 Typen 10000 entwicklungsfähige Keime, eine Zahl, die, auch wenn man in Rechnung setzt, daß nicht alle in der Zählplatte aufgehenden Kolonien Einzellkulturen waren, doch weit unter den in den zuckerfreien Lösungen gefundenen Werten liegt. Nach 720 Std. wurden keine entwicklungsfähigen Keime mehr gefunden, während ihre Zahl in den erstbeschriebenen Versuchen zu dieser Zeit immer noch viele Millionen betragen hatte.

Danach könnte es in der Tat scheinen, als ob die gebildete Säure die oben als denkbar bezeichnete entscheidende Rolle bei der Vergärung spielt und vielleicht auch für die Unterschiede in der Gasbildung verantwortlich ist. Eine Gegenprobe bietet sich dann, wenn man die entstehende Säure abfängt, was ja einfach durch Zusatz von Schlammkreide möglich ist. Wäre die gebildete Säure von ausschlaggebender Bedeutung, dann müßten hier die Unterschiede zwischen A und B in Wegfall kommen. Das ist aber nicht der Fall, wie dieser von mir vor 2½ Tagen angesetzte Versuch zeigt (Demonstration): Im Gegenteil, der Unterschied in der Gasbildung ist in den säurefreien Kulturen noch stärker als in jenen ohne Zusatz der Schlammkreide. Der Säureeinfluß darf also für diesen Unterschied nicht verantwortlich gemacht werden.

Der Versuch, in den säurefreien Traubenzuckerkulturen den Gang der Gärung durch Zählung zu verfolgen, blieb wiederum auf die ersten Tage dieser Entwicklung beschränkt, insofern auch hier, allerdings erst später — nach etwa 90—100 Std. — ebenfalls eine, wenn auch qualitativ schwächere, Verklumpung sich einstellte. Bis dahin war aber auch hier das relative Zahlenverhältnis das vorher beobachtete, während die absoluten Zahlen offenbar infolge der durch die Säurebindung gebesserten Existenzbedingungen überall stark erhöht sind.

Stamm	Einsaat	Zahl nach		
		6 <sup>h</sup>	72 <sup>h</sup>	90—100 <sup>h</sup>
		in Millionen im ccm		
Ty. Kiel-Labor.	3,15	2	320	} Verklumpung
A Kiel	0,73	5	968	
B Kiel 514	0,71	12,5	2200	

Hinsichtlich der Verklumpung ist also anzunehmen, daß eine reine Säureagglutination nicht vorliegt. Im übrigen aber ergibt sich aus der weit stärkeren Gasbildung des B-Typus, daß die Säure für die Unterschiede in der Stärke der Gasbildung nicht — jedenfalls nicht entscheidend — von Einfluß ist.

Als Ergebnis dieser Versuche glaube ich feststellen zu dürfen:

1) Die von Lehmann angenommene biologische Stufenleiter innerhalb der Typhus-Paratyphusgruppe besteht zu Recht.

2) Ihre Begründung aber sollte nicht lediglich in einer mehr oder weniger starken Assimilationsfähigkeit gegenüber gewissen Nährstoffen gefunden werden; sie ist vielmehr in der mehr oder weniger starken vitalen Energie der einzelnen Typen zu suchen, die in der Vermehrungsfähigkeit und der Fähigkeit, das Leben zu fristen, ihren Ausdruck findet. Günstigere Ernährungsbedingungen sind für diese naturgemäß förderlich, aber nicht in einer für die einzelnen Typen spezifischen Weise.

Zum Schlusse wäre vielleicht noch der Hinweis am Platz, daß die geringere Wachstumsenergie des Typhus- bzw. die stärkere des B-Bakteriums eine auf den üblichen Nährbodenplatten alltäglich beobachtete Erscheinung ist, insofern wir ja das zarte Wachstum des Typhuskeimes und das im Verhältnis dazu üppigere Aussehen der Kolonien vom B-Typus als ein geläufiges differentialdiagnostisches Merkmal benutzen.

#### Diskussion.

**Bieling:** Im allgemeinen mag es zutreffen, daß der Para A-Bazillus Kohlehydrate schwächer angreift als Para B und stärker als Typusbazillen. Aber zwei Reaktionen, welche seinerzeit zur Differentialdiagnostik des Para A angegeben wurden, widersprechen dem Schema: Xylose wird von Para B und Typhus vergoren, von Para A jedoch überhaupt nicht. Weiterhin werden Galaktose-Nährböden von Para A weniger gesäuert als von Typhus (und Para B). In seinem Verhalten gegen Xylose und Galaktose steht also der Typhusbazillus dem Para B näher als der Para A-Bazillus.

3. Tag. 10. September 1920 vormittags.

Vorsitzender: Heim (Erlangen).

III. Referat. Lührs (Berlin):

#### Rotz.

Dank der Arbeiten eines Loeffler und Schütz und der darauf aufgebauten Maßnahmen war der Rotz in Deutschland vor dem Kriege eine so seltene Seuche geworden, daß Nevermann 1914 mitteilen konnte, daß Preußen nach der Nachweisung über den Stand der Tierseuchen vom 31. Jan. 1914 frei von Rotz war.

Da die bewährten Abwehrmaßnahmen bei Beginn des Krieges durch die gewaltige Verschiebung des inländischen Pferdebestandes und Vermischung mit Pferden aus dem Auslande, sowie dem Aufenthalt unseres Pferdebestandes in feindlichen, verseuchten Landstrichen, nicht in dem gewünschten Umfange durchführbar waren, trat in den ersten Kriegsjahren eine zeitweilig beängstigende Rotzverseuchung unseres Pferdebestandes auf. Da wir bekanntlich den Rotz durch Keulung tilgen und

die Kadaver der getöteten Pferde unschädlich beseitigt werden mußten, wurde das Nationalvermögen in erheblichem Maße geschädigt und die Gefechtskraft der Truppen beeinträchtigt.

Ich kann Ihnen z. B. mitteilen, daß in den ersten Monaten des Jahres 1915 in einem Monat im Osten etwa 2000 Pferde und im Heimatheer über 1200 Pferde wegen Rotz gekeult wurden.

Durchschnittlich sind während des Krieges in jedem Quartal im Heimatheer etwa 350 Pferde wegen Rotz vernichtet worden. Nach einer Zusammenstellung des Generaloberveterinär Dr. Pätz sind im Heimatheer in der Zeit von 1914 bis Ende 1918 insgesamt 5776 wegen Rotz getötet, 1559 Pferde in den Pferdelaazaretten, 1518 in den Pferdededepots und 611 in den Zentralpferdedepots. Vom Feldheer kann ich Ihnen leider keine absoluten Zahlen angeben; ich werde Ihnen nachher eine Zusammenstellung im Bilde geben können. Durch sämtliche Blutuntersuchungsstellen wurden während des Krieges 35 938 rotzkrankte Pferde ermittelt. Im Befehlsbereich Ober-Ost sind ab März 1915 bis Sept. 1918 10 683 Pferde wegen Rotz getötet. Dazu kommen 3582 russische Ankaufspferde vom Dez. 1917 bis Sept. 1918.

Die maßgebenden Behörden folgten gleich nach Kriegsausbruch den veterinären Anregungen und setzten alle Hebel in Bewegung, um der Seuche Herr zu werden.

Die schon in Friedenszeiten erprobten und glänzend bewährten Methoden der Rotztilgung, die sich hauptsächlich auf die Arbeiten deutscher Forscher aufbauen, wurden auf die Kriegsverhältnisse eingestellt.

Der Hauptwert wurde auf die serologischen Untersuchungsmethoden gelegt, da bekanntlich der rein klinischen Untersuchung eine große Anzahl von rotzkranken Pferden entgehen. Es bedurfte auch nur einer kurzen Kriegserfahrung, um nachzuweisen, daß die von Wassermann empfohlene und von Schütz und Schubert ausgearbeitete und in die Tiermedizin eingeführte Komplementbindung in der Malleinaugenprobe eine bedeutende Unterstützung fand, und daß allein die Kombination beider Methoden die Gewähr bot, einen rotzig infizierten Pferdebestand in absehbarer Zeit zu entseuchen.

Wir haben es bei der Heeresverwaltung während des Krieges und jetzt so durchgeführt, daß jedes Truppenpferd 2mal im Jahre serologisch untersucht und gleichzeitig die Malleinaugenprobe durchgeführt wird.

Bei Ausbruch des Krieges stand sämtlichen Armeen nur das Laboratorium der Militär-Veterinär-Akademie für Untersuchungszwecke zur Verfügung. Für den sich einstellenden Massenbetrieb erwies sich diese einzige Untersuchungsstelle sehr bald als unzureichend, so daß schon Sept. 1914 die Vorbereitungen für neue Untersuchungsstellen getroffen wurden. Eine Zweigstelle wurde zuerst in Brüssel im Dez. 1914 errichtet. Die Erfahrung lehrte, daß die Untersuchungsstellen möglichst eng mit den Truppenverbänden zusammenarbeiten mußten, um die Uebersicht über die Pferdebestände nicht zu verlieren. Aus diesem Grunde wurden im Jahre 1915 22 Blutuntersuchungsstellen eingerichtet, die sich über sämtliche Kriegsschauplätze verteilten. 1918 arbeiteten 25 Blutuntersuchungsstellen, und zwar 4 für das Inland und 21 im besetzten Gebiet. Bei der häufigen Verschiebung der Truppen auf die verschiedensten Kriegsschauplätze trat das Bedürfnis nach transportablen Untersuchungsstellen hervor. Von dem Laboratorium der Militär-Veterinär-Akademie wurden deshalb fahrbare Tierblutuntersuchungsstellen zusammengestellt, deren Zahl im Jahre 1918 12 betrug.



Es ist nicht meine Aufgabe, über die Einrichtung und den Betrieb dieser Untersuchungsstellen eingehenden Bericht zu erstatten. Jedenfalls kann man aber mit vollem Recht behaupten, daß die Blutuntersuchungsstellen sich glänzend bei der Bekämpfung des Rotzes bewährt und den Beweis erbracht haben, daß die serologischen Untersuchungsmethoden sich auch zum Massenbetrieb, der wohl einzig in der Serologie dasteht, eignen.

Um Ihnen kurz eine Uebersicht über die Arbeitsleistung zu geben, habe ich einige Zahlen zusammengestellt, die ein ungefähres Bild ergeben. Es ist dem späteren amtlichen Kriegsbericht vorbehalten, genaue Zahlen und eine Uebersicht der Wertigkeit der einzelnen Methoden zu geben.

Im Jahre 1915 arbeiteten 22 Untersuchungsstellen, darunter 9 fahrbare.

Untersucht wurden	2 125 590 Blutproben,
davon rotzig	9 139 = 0,43 Proz.
rotzverdächtig	15 984 = 0,75 „

Durchschnittlich erledigte eine feststehende Untersuchungsstelle im Monat 16 949 Proben und eine fahrbare 5286.

1916 erledigten die gleichen Untersuchungsstellen

	3 900 297 Blutproben,
davon rotzig	8 489 = 0,22 Proz.

1917 gleichfalls 22 Untersuchungsstellen

Anzahl der Proben	4 733 496
davon rotzig	6 432 = 0,11 Proz.

1918 25 Blutuntersuchungsstellen

Anzahl der Proben	4 809 658
davon rotzig	11 888 = 0,205 Proz.

Hinzufügen möchte ich hier noch, daß sich bei den Sektionen der durch die Blutuntersuchung für rotzkrank erklärten Pferden im Jahre 1915 5,08 Proz. als sogenannte Fehldiagnosen herausgestellt haben, in den folgenden Jahren betrug die Zahl 3—4 Proz. Von 273 541 Blutproben des Jahres 1919 wurden 322 = 0,12 Proz. als rotzpositiv erklärt. Von diesen 322 Proben erwiesen sich bei der Sektion 11 Pferde = 3,4 Proz. als rotzfrei.

Jedenfalls ersieht man aus den obigen Zahlen eine deutlich absteigende Kurve des Rotzes. Ich werde Ihnen nachher an Hand von Kurven die Verhältnisse noch anschaulicher schildern können. In den beiden letzten Kriegsjahren bot der Rotz als Kriegsseuche keine beunruhigende Gefahr mehr, da wir seine Ausbreitungsmöglichkeiten bekämpfen und verhindern konnten. Die Zahlen der rotzkranken Pferde des Jahres 1918 wären übrigens noch bedeutend niedriger, wenn man die Pferde herausnimmt, die bei dem Vormarsch in Rußland Verwendung fanden, und die Pferde, die als Ankaufspferde aus diesen besetzten Gebietsteilen stammten. Die vorrückenden Truppen fanden in der Ukraine und der Krim eine ganz enorme Rotzverseuchung der russischen Pferde vor — Poppe gibt 9,54 Proz. an —, die natürlich auf die Statistik einen unheilvollen Einfluß ausüben mußte. Es ließ sich bei dem Vormarsch nicht verhüten, daß unsere Truppenpferde sich mit Rotz infizierten, da große Pferdebestände in dem neu besetzten Gebiet aufgekauft und mit unserem Pferdebestande im Osten und Westen vermischt

wurden. Unter diesen Beute- und Ankaufspferden wurden zeitweise 50 Proz. als rotzkrank herausgefunden. Die Blutuntersuchungsstelle Warschau z. B., durch die die meisten russischen Ankaufspferde untersucht wurden, hatte im Januar 1918 allein 505 rotzpositive Diagnosen, während alle übrigen Untersuchungsstellen des Ostens und Westens, sowie des Inlandes zusammen nur 223 rotzpositive aufwiesen. Aus dieser Beobachtung kann man demnach auf den Wert der deutschen Bekämpfungsmaßregeln schließen. Bei uns war der Rotz im letzten Kriegsjahre beinahe wieder eine Seltenheit, bei den Russen, die nur klinisch untersuchten und malleinisierten, d. h. wahrscheinlich auch nur im beschränkten Maße, eine ungeheuerere Ausbreitung der Seuche.

Aus meinen Kriegserfahrungen, die ich sowohl bei den Blutuntersuchungsstellen, besonders aber in der vom Kriegsministerium eingerichteten Tierseuchenforschungsstelle in Pojeziory, gemeinsam mit meinen Mitarbeitern, den Stabsveterinären Dr. Bierbaum und Dr. Eberbeck, sammeln konnte, will ich Ihnen einen kurzen Ueberblick über die Rotzkrankheit, die Rotzdiagnosen und die Heilung des Rotzes geben.

Einige Bemerkungen über den Rotzbazillus selbst muß ich voraussenden, da sich in der Literatur zum Teil noch unrichtige Angaben vorfinden. Der Rotzbazillus wird in den meisten bakteriologischen Lehr- und Handbüchern als ein gerades oder schwach gebogenes, an den Enden abgerundetes oder etwas spitz zulaufendes unbewegliches, schlankes, nicht sporenbildendes, gramnegatives Stäbchen von 2—5  $\mu$  Länge und 0,5—0,8  $\mu$  Breite beschrieben. Man muß bei diesen Angaben aber unterscheiden, ob man Bazillen aus einer frischen oder alten Kultur oder aus Organen vor sich hat. Für die letzteren dürften die Angaben ungefähr stimmen.

Troester, einer der erfahrensten Kenner des Rotzbazillus, hat schon 1900 darauf hingewiesen, daß Bazillen aus ganz frischen Rotzkulturen überhaupt nicht den Anblick eines Stäbchens darbieten, sondern meist rundliche oder ovale Formen aufweisen, die wie eine verkleinerte Ausgabe des Hühnercholerabazillus aussehen und diesen auch darin gleichen, daß sie eine ausgezeichnete Polfärbung annehmen. Ich kann seinen Angaben vollkommen beipflichten und möchte auch behaupten, daß man diese Formen ebenfalls noch in alten Kulturen, die meist allerdings Stäbchenform annehmen, nachweisen kann. In alten Kulturen kann man zuweilen lange Fäden mit den wunderlichsten Figuren beobachten. Ich habe Ihnen ein solches Präparat aufgestellt. Von ähnlichen Präparaten ausgehend, haben Marx und Conradi wahrscheinlich die Einrangierung des Rotzbazillus unter die Streptotricheen vorgenommen.

Jedenfalls ist das Aussehen des Rotzbazillus in hohem Maße von der Kultur abhängig. Daß die Kartoffelnährbodenkultur am besten und durchaus charakteristisch wachsen soll, hat sich nach meinen Erfahrungen als falsch erwiesen. Das beste Wachstum zeigt der Rotzbazillus auf einem Glycerinagarnährboden bei 38° C. Es ist nach meinen Erfahrungen ziemlich gleichgültig, ob man 1 oder mehr Prozent Glycerin dem Agar zusetzt, da ich Unterschiede im Wachstum bei vergleichenden Untersuchungen nicht habe feststellen können; man darf aber nicht über 5 Proz. hinausgehen, da dann das Wachstum aufhört. Vehse hat in meinem Laboratorium umfangreiche Untersuchungen über die Wachstumsbedingungen des Rotzbazillus vorgenommen und festgestellt, daß das Wachstum des Rotzbazillus sowohl auf Nährböden mit saurer,

neutraler und alkalischer Reaktion erfolgt. In den einzelnen Graden der Alkalität (bis 0,6 Proz. Alkalität) und zwischen Alkalität und Neutralität bestehen keine Unterschiede. Stark saure Reaktion schadet, schwach saure Reaktion fördert das Wachstum, besonders in Form der 1-proz. Normalsalzsäure. Bei Zusatz von Traubenzucker stellt sich kümmerliches Wachstum ein, Milchzuckerzusatz fördert das Wachstum recht gut.

Farbige Nährböden bieten für die Unterscheidung des Rotzbazillus von anderen Bakterien keine besonderen Vorteile. Ich kann mich Rohonyi nicht anschließen, dem Glycerin-Agar mit 3 Proz. Giemsa-Farbe gute Dienste leistete, wenn er Malleusbazillen in einer Bakterienmenge (Nasengeschwür) suchte. Rotzbazillen wuchsen bei mir nur auf Glycerin-Agar, dem 1—2 Proz. Giemsa zugesetzt waren, während 3 Proz. das Wachstum stark behindern. Die rotgefärbten Kolonien unterscheiden sich makroskopisch zu wenig von anderen Bakterienarten, so daß ein einfacher Glycerinnährboden dieselben Dienste leistet.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich auch erwähnen, daß der Rotzbazillus auf albumosefreien Nährböden ein ausgezeichnetes Wachstum zeigt und sich das daraus hergestellte Mallein vorzüglich zur Malleinaugenprobe eignet. Wir haben hier also ähnliche Verhältnisse wie beim Tuberkelbazillus. Vehse hat dann noch nachgewiesen, daß der Rotzbazillus durchschnittlich eines 11-tägigen Wachstums auf Bouillon und eines 13-tägigen Wachstums auf eiweißfreiem Nährboden bedarf, um brauchbares Mallein zu liefern und beide Kulturen vom 3. Tage an brauchbare Extrakte für die Komplementbindung abgeben.

Meine praktisch wichtigen Untersuchungsergebnisse, daß Kalkmilch  $\frac{1}{20}$  Rotzbazillen sicher in 6 Std. abtötet, und zwar auch in Hautgeschwüren, hat die Verwendung von Häuten rotziger Pferde zur Lederfabrikation ermöglicht. Ich verweise hier auf die Arbeiten Pfeiffers, der meine Untersuchungen erweiterte.

Da der Rotzbazillus kulturell und morphologisch oft sehr schwer zu diagnostizieren ist, haben wir stets aus verdächtigen Kulturen Extrakte hergestellt und die Diagnose durch die Komplementbindung mit Rotzserum gesichert.

Die Methodik der Komplementbindung zur Diagnose des Rotzes, die wir hauptsächlich Schütz und seiner Schule verdanken, hat uns, wie Sie aus dem Vorhergehenden ersehen, in diesem Kriege neben den klinischen Untersuchungen und der Malleinaugenprobe die größten Dienste geleistet. Die so glänzend gelungene Rotzbekämpfung in diesem Kriege und in der Nachkriegszeit wäre uns ohne die serologischen Methoden bei dem Massenaufgebot von Pferden wahrscheinlich nicht gelungen. Die Zeit verbietet es leider, Ihnen heute über dieses Thema längere Mitteilungen zu machen; überdies sind die Erfahrungen hierüber in der Arbeitsanweisung für die Laboratorien niedergelegt und leicht nachzulesen. Nur einige weniger bekannte Laboratoriumsgeheimnisse und Ausnahmen möchte ich Ihnen bekanntgeben. Wir arbeiten stets mit austitrierten Komplementmengen, d. h. mit derjenigen Menge, die, dem hämolytischen System zugesetzt eben noch vollständige Hämolyse hervorruft. Vor der Verwendung des Meerschweinchenserums als Komplement ist es aber unbedingt erforderlich, daß man das Serum jedes einzelnen Meerschweinchens vor dem Mischen auf seine Brauchbarkeit nachprüft. Ich habe es stets so gehandhabt und führe es auch jetzt noch streng durch, daß vor dem Versuch jedes einzelne Meerschwein-

chenserum 4—5-proz. auf seine Brauchbarkeit im hämolytischen Versuch vorgeprüft wird und nur die Sera zur Verwendung kommen, die 4-proz. in 10 Min. glatte Lösung bedingen. Im Laboratorium des Heeres-Veterinär-Untersuchungsamtes wird außerdem jedem sogenannten Tierröhrchen bei diesem Versuch gleich die gebrauchsfertige Extraktmenge zugesetzt. Macht man von dieser Vorschrift nicht Gebrauch, so wird man oft in die größten Verlegenheiten geraten, da wenige Kubikzentimeter komplementarmen Meerschweinchen-serums eine große Menge sonst brauchbaren Komplements für den Versuch unbrauchbar machen können. Ich habe dieses Verfahren auch bei der Luesdiagnose benutzt, die ich häufiger vergleichsweise bei meinen Brustseucheuntersuchungen angestellt habe und recht gute Erfahrungen mit dieser Methodik gemacht. Jedenfalls empfehle ich diese Art der Auswertung allen denen, die sich praktisch mit dieser Methode beschäftigen. Nach diesem ersten Vorversuch wird dann das Meerschweinchenmischserum noch allein, mit Extrakt ohne Serum, mit Normalserum, und mit 2 bekannten Rotzseren eingestellt und erst aus dem Resultat dieses Vorversuches die Komplementmengen für den Hauptversuch bestimmt.

Ueber Rotzektrakte will ich Ihnen heute nur so viel mitteilen, daß wir meist mit wässerigen Extrakten, und zwar Kochextrakten, arbeiten, und daß die Güte des Extraktes hauptsächlich von einem geeigneten Rotzstamm abhängt. Das Alter der Kultur übt bis zu 4 Wochen keinen Einfluß auf seine Brauchbarkeit aus. Alkoholische Extrakte haben sich nach meinen Versuchen ebenso brauchbar wie die wässerigen erwiesen. Man kann zum Extrahieren Aethyl- und auch Methylalkohol verwenden, wie Jahn nachgewiesen hat. Jahn fand ferner, daß die wässerigen Extrakte meist schon 1-proz. brauchbar sind, während die niedrigste Grenze beim Aethylalkohol  $2\frac{1}{2}$ —4 Proz., beim Methylalkohol bei 2—4 Proz. liegt. Nur darf man die alkoholischen Extrakte höchstens in einer ca. 20-proz. Verdünnung verwerten, während wässrige Extrakte im allgemeinen erst bei ca. 40 Proz. Eigenhemmung aufweisen. Verwendet man Malleïn als Extrakt, so wird man häufig die Beobachtung machen, daß diese Extrakte ein unregelmäßiges Verhalten bei der Einstellung zeigen. Meist hemmt Malleïn mit Rotzserum vorzüglich bis etwa 1 Proz., dann kommt bei einer Anzahl von Malleïnen die negative Phase bis 10 Proz. und hernach tritt wieder Hemmung ohne Eigenhemmung bis etwa 30 Proz. ein. Derartige Extrakte muß man deshalb vor jedem Versuch genau einstellen, um Fehlresultate zu vermeiden. Uebrigens werden diese Resultate für die Auswertung des Malleïns nach Schreiber und Stickdorn in Betracht gezogen werden müssen. Wässrige und alkoholische Extrakte sind selbstverständlich vor Ingebrauchnahme ebenfalls auszutitrieren, da jeder Extrakt eine verschiedene optimale Reaktionsbreite besitzt. Ich habe jetzt Extrakte, die ich vor 5 Jahren hergestellt habe, auf ihre Brauchbarkeit nachgeprüft und festgestellt, daß sie noch die gleiche Reaktionsbreite besitzen, wie bei ihrer Herstellung, so daß man die wässerigen und alkoholischen Rotzextrakte im allgemeinen als unbegrenzt haltbar bezeichnen kann.

Wichtige Feststellungen hat dann Ketz in letzter Zeit über den Einfluß von niederen Temperaturen auf das Komplementbindungsphänomen bei der Serodiagnose der Rotzkrankheit auf meine Anregungen hin gemacht. Ketz weist in seiner Dissertation nach, daß die Temperatur von 38° C zur Bindung des Komplements nicht erforderlich ist. Eine Bindung tritt auch bei Temperaturen von 16—18° und 5—8° ein.

Die Reaktion fällt bei Ablauf der Bindungsphase in einer Temperatur von 16–18° ebenso scharf, zum Teil aber schärfer aus als bei 38°. Bei 5–8° ist die Reaktion im allgemeinen schwächer als bei 38° und 16–18°. Es gibt aber Sera, die bei 5–8° stärker positiv reagieren als bei 38°. Bei Anwendung des Kälteverfahrens ist zur Herbeiführung der Hämolyse eine geringere Komplementmenge erforderlich als bei der Originalmethode. Der Unterschied zugunsten der Kältemethode beträgt gewöhnlich 0,7–0,8 Proz., niemals weniger als 0,5 Proz. Damit wurden die von Thomsen und Boas bei der Wassermannschen Reaktion gefundenen Versuchsergebnisse auch für die Komplementbindung beim Rotz bestätigt. Die Methode empfiehlt sich demnach, da durch den Fortfall der Bindung im Wasserbade die Arbeitsleistung vermindert wird und vor allem infolge der geringen Komplementmenge eine wesentliche Ersparnis an Meerschweinchen gemacht wird.

Zu den Bedingungen, die ein erfolgreiches Arbeiten gewährleisten, gehört die Anwendung einer gleichmäßigen Technik, wie sie uns in der Arbeitsanweisung gegeben ist. Die Militärverwaltung hat von Anfang an darauf Wert gelegt, daß alle Untersuchungsstellen ihre Ausbildung an zentraler Stelle genossen und ihre Gebrauchsreagentien nur von der Zentrale bezogen. Nur dadurch war eine gleichmäßige Beurteilung möglich und es konnte jede Schwierigkeit bei dem häufigen Wechsel der zu den Truppenteilen gehörigen Blutuntersuchungsstellen vermieden werden.

Ist nun die Komplementbindung beim Rotz spezifisch und kann man aus der Menge der vorhandenen Reaktionsstoffe ungefähr auf die Ausdehnung des Rotzes in den Organen schließen?

Für die Spezifität ist die Sektion der serologisch rotzkrank erklärten Pferde eine zuverlässige Kontrolle. Allerdings ist diese Kontrolle auch nur bedingt zuverlässig, da es zuweilen auch dem geübtesten Pathologen außerordentliche Schwierigkeiten verursachen kann, eine sichere Diagnose am Kadaver zu stellen, namentlich dann, wenn es sich um geringfügige Veränderungen latent rotzkranker Pferde und Pneumonien handelt. Ueberdies bestehen jetzt keine Zweifel mehr, daß der Rotz vollkommen abheilen kann, und zwar so, daß Veränderungen an den Organen nicht mehr nachweisbar sind; dabei behalten diese Tiere aber noch eine Zeitlang ihre nachweisbaren komplementablenkenden Stoffe im Blute bei. Unter den 3–5 Proz. Fehlresultaten, die ich Ihnen bei meiner Aufstellung über die getöteten Pferde bekanntgab, werden sich demnach eine ganze Anzahl von Pferden befinden, bei denen der Rotz abgeheilt war. Außerdem muß man hierbei aber auch die Kriegsverhältnisse in Betracht ziehen, unter denen ausführliche Sektionen kaum durchführbar waren.

Ich habe oft genug Gelegenheit gehabt, bei der Nachuntersuchung von Organen eine erst negative Diagnose in eine positive umzuwandeln und auch umgekehrte Fälle beobachtet.

Durch die ausgezeichneten Untersuchungen Eberbecks, der uns auf die histologische Rotzdiagnose wieder aufmerksam machte, haben wir uns außerdem davon überzeugen können, daß der Rotzknoten verkalken kann und man nicht jedes verkalkte Knötchen von vornherein als ein nicht rotziges ansehen darf. Verwechselungen der Pferde, der Blutröhrchen bei der Entnahme und der Untersuchung dürften bei dem

Massenbetrieb naturgemäß mit Veranlassung abgegeben haben, die Fehlergebnisse zu vergrößern. Die Zahl der Fehlergebnisse läßt sich also bei Ausschaltung dieser Fehlerquellen auf ein Minimum beschränken. Zurzeit betragen sie 1—2 Proz.

Die Komplementbindung ist nicht unfehlbar, jedoch kann man wohl mit Recht von einer Spezifität sprechen. Die wenigen Fehlergebnisse, die unvermeidlich sind, müssen mit in den Kauf genommen werden, kommen aber bei ihrer Geringfügigkeit kaum in Betracht und werden noch erklärlicher durch folgende Beobachtungen:

Schütz und Schubert haben gleich im Anfang der serologischen Rotzbekämpfung festgestellt, daß die Reaktionskörper erst eine gewisse Zeit nach der Infektion nachweisbar sind. Sie haben an künstlich mit großen Mengen von Kultur infizierten Pferden eine Frist von 6—7 Tagen bis zum Auftreten der Reaktionsstoffe festgestellt. Dies ist wohl die kürzeste Frist, die überhaupt möglich ist. Waldmann hat Pferde mit  $\frac{1}{50000}$  Oese Rotzbazillen infiziert und konnte sehen, daß die Reaktionsstoffe erst nach 10 Tagen nachweisbar waren. Man kann daraus ersehen, daß das Auftreten und damit die Nachweisbarkeit der Reaktionsstoffe abhängig ist von dem Verlauf der rotzigen Erkrankung des betreffenden Pferdes. Einwandfrei konnten wir dann auch die alten Erfahrungen bei unseren Rotzpferden bestätigen, daß der Rotzprozeß bei einzelnen Pferden zu einem gewissen Stillstand kommen kann; damit hört allmählich auch die Weiterbildung der Reaktionsstoffe auf. Ist der Stillstand im Verlaufe der rotzigen Erkrankung nur ein vorübergehender, so treten auch wieder nachweisbare Reaktionskörper mit einer neuen Ausbreitung der Erreger auf. Deshalb findet man bei Reihenuntersuchungen bei einzelnen Pferden Perioden mit positivem Blutbefund, die mit Perioden mit negativem Blutbefund abwechseln. Man wird also bei einer nur einmaligen Blutuntersuchung zuweilen chronisch rotzkranken Pferde nicht ermitteln können. Diese Pferde zeigen dann bei der Sektion alte Veränderungen, die sicher schon zur Zeit der Untersuchung bestanden haben. Man kann also billigerweise von der Komplementbindung nicht verlangen, daß man jedes rotzkranken Pferd bei einer Untersuchung ermittelt.

Ueber die Spezifitätsfrage haben Fontaine und Lütje eine besondere Arbeit geliefert. Aus ihrem großen Untersuchungsmaterial von über 1500 Pferden ergibt sich, daß Pferde mit Brustseuche, Druse, Influenza, Petechialfieber, ausgebreiteten Eiterungen, allgemeiner Kachexie bei Räude, starken Parasiteninvasionen, Eierstockszysten usw. niemals auch nur die geringste serologische Abweichung bei der Verwendung von Rotzextrakt aufweisen. Ich selbst habe oft genug große Bestände, die an anderen Infektionskrankheiten litten, untersucht und kann mich den Erfahrungen von Fontaine und Lütje in jeder Beziehung anschließen. Weiterhin kann ich auch den Erfahrungen von Fontaine und Lütje, die diese mit unspezifischen Extrakten gesammelt haben, beipflichten. Ich habe eine Zeitlang meine Rotzpferde gleichzeitig mit Streptokokkenextrakt nachgeprüft, ferner mit einem Proteus-Extrakt und Luesextrakt, und habe in keinem Fall ein Serum gefunden, daß gleichzeitig mit Rotzbazillen und anderen Bazillen eine positive Reaktion ergab.

Was nun die zweite Frage anbelangt, so kann man im allgemeinen nach unseren Untersuchungen sagen, daß man bei der Komplementablenkung in der Mehrzahl der Fälle bei Reihenuntersuchungen aus der Menge der nachzuweisenden Reaktionsstoffe ungefähr auf die Ausdehnung

6\*

des Rotzes in den Organen schließen kann. Es treten aber hier manches Mal große Verschiedenheiten auf.

Wir haben erlebt, daß bei alten Rotzpatienten mit sehr hohem Bindungswert bei sorgfältigster Sektion keine rotzigen Veränderungen gefunden wurden. Auch umgekehrt sind Fälle zu verzeichnen, bei denen die nachweisbaren Reaktionsstoffe aus dem Blute verschwunden waren und die Pferde bei den Sektionen ausgebreitete rotzige Veränderungen aufwiesen. Die Beobachtungen erstrecken sich bei den einzelnen Pferden über viele Monate, so daß in dieser Beziehung jegliche Fehlerquelle auszuschließen ist. Ferner machten wir die Erfahrung, daß durch Arzneimittel eine Beeinflussung der Reaktionskörper möglich ist, ohne daß eine nachweisbare Beeinflussung des Rotzherdes eintritt.

Interessante Beobachtungen habe ich auch mit der Komplementbindung bei Fohlen gemacht. Vorweg sei bemerkt, daß selbst stark rotzige Stuten bei uns niemals ein infiziertes Fohlen bei sich trugen oder zur Welt brachten. Nach der Geburt zeigt das Blut der Saugfohlen fast die gleiche Menge von Reaktionsstoffen, wie das der Mutter. Diese Stoffe bleiben meist einige Wochen im Blute des Fohlens nachweisbar, verschwinden aus dem Blute, und das Fohlen, wenn es sich inzwischen nicht von der Mutter infiziert hat, kann rotzfrei bleiben.

Interessant ist es auch zu beobachten, wie sich der gesunde und der rotzkranke Pferdekörper gegen künstlich zugefügtes Rotzgift verhalten. Bei einem rotzkranken Pferde üben die Produkte des Rotzhazillus einen schädigenden Einfluß aus. Bei der Sektion findet man meist ganz akute rotzige Veränderungen. Die Reaktionsstoffe vermehren sich nach einer Einspritzung des Rotzgiftes. Bei einem gesunden Pferde treten die Reaktionsstoffe meist in derselben Reihenfolge und in der gleichen Zeit auf, wie wir es aus der Literatur kennen. Der gesunde Pferdekörper wird mit dem Fremdkörper bald fertig, d. h. nach einigen Wochen ist bei den meisten Tieren keine Komplementbindung mehr nachzuweisen. Wenn man die Einspritzung häufiger wiederholt, so treten nach jedesmaliger Einspritzung in der ersten Zeit erneut Reaktionsstoffe auf. Allmählich werden die meisten Pferde indifferent, d. h. sie haben die Fähigkeit verloren, nachweisbare Reaktionskörper zu bilden, und man kann trotz größerer Gaben dann keine komplementbindenden Stoffe nachweisen. Die Tatsache wäre von größter Bedeutung bei der Immunisierungsfrage.

Ganz gleiche Verhältnisse liegen vor, wenn man Rinder auf dieselbe Art und Weise mit Rotzgift vorbehandelt.

Aus dieser ganz kurzen Mitteilung können Sie aber schon ersehen, wie schwer es manchmal dem Serologen fällt, eine richtige Diagnose zu stellen, und Sie werden gleich sehen, wie wichtig es ist, sich nicht auf eine Methode allein zu verlassen, sondern neben den klinischen Untersuchungen auch die übrigen bekannten Methoden bei der Rotzbekämpfung mitzuverwerten.

Die Agglutination spielt nur bei frischen Fällen und einigen wenigen älteren Fällen eine Rolle. Nur etwa 25 Proz. aller auf Grund einer positiven Komplementablenkung getöteten und bei der Sektion rotzkrank befundenen Pferde weisen einen diagnostisch verwertbaren Agglutinationstiter auf. Ein gewisser Vorteil der Agglutination wird darin gesucht, daß frisch infizierte Pferde 1 oder 2 Tage früher als die Komplementablenkung, d. h. schon am 5. oder 6. Tage nach der Infektion, einen erhöhten, diagnostisch verwertbaren Titer aufweisen, während die ersten Ab-

lenkungswerte erst etwa am 7. Tage aufzutreten pflegen. Da diese Versuche aber an künstlich infizierten Pferden ausgeführt wurden und die Beobachtung bei natürlich infizierten Tieren diese Regelmäßigkeit nicht ergeben haben, haben diese Feststellungen nur bedingten Wert. Waldmann gibt an, daß der Prozentsatz derjenigen Rotzfälle, die mit Agglutination allein, ohne positive Ablenkung ermittelt wurden, 1—2 Proz. betragen. Bei der Heeresverwaltung werden Pferde mit hohen Agglutinationswerten nur für rotzverdächtig erklärt, und für rotzkrank erst nach positiver Malleinaugenprobe resp. positiver Komplementbindung. Weiter wird auch darüber berichtet, daß bei fiebernden Pferden besonders auch bei Morbus maculosus Agglutinine im Blute auftreten, die zur Täuschung Anlaß geben könnten. Wir hatten ein Pferd in der Forschungsstelle stehen, das monatelang eine Agglutinationsziffer bis 4000 zeigte, und bei dem sonst nichts nachzuweisen war. Der Wert dieser Methode ist also für uns ein engbegrenzter.

Ueber den Wert der Konglutination, die 1912 zuerst von Pfeiler zur Rotzdiagnose herangezogen wurde, sind die Meinungen verschieden. Unsere Erfahrungen haben uns gezeigt, daß jedes rotzkranken Pferd Konglutination zeigt, und zwar auch dann noch, wenn die komplementbindenden Stoffe schwer nachweisbar sind. Ein Pferd, das keine Konglutination aufweist, ist auch sicher rotzfrei. Schwierig zu beurteilen sind aber nun die Fälle am lebenden Pferd, die nur Konglutination zeigen, da nach unseren Erfahrungen anzunehmen ist, daß die Konglutinine nicht spezifisch sind, worauf schon Andersen hingewiesen hat. Wir haben bei rotzfreien Pferden, und Pferden, die an sonstigen chronischen Krankheiten litten, Konglutinine nachweisen können. Von unseren gesunden Pferden, die sich bei der Sektion als rotzfrei erwiesen, zeigten etwa 10 Proz. Konglutination.

Die Hämagglutination, die von Schütz, Waldmann und Pfeiler bearbeitet worden ist, zeigte bei unseren Untersuchungen im großen und ganzen die gleichen Ergebnisse wie die Komplementbindung.

Für beide Methoden ist es gleichfalls notwendig, daß man das Komplement genau einstellt. Das Arbeiten mit gleichbleibenden Komplementmengen = 0,1 Pferdeserum bei der Konglutination, das zuerst empfohlen wurde, hat sich nicht bewährt.

Da sich bei einem Teil der Esel, Maultiere und in seltenen Fällen auch bei Pferden die antikomplementären Stoffe des Serums so stark bemerkbar machen, daß die Komplementbindung nicht ausführbar ist, da diese inaktivierten Sera bereits ohne Zusatz von Extrakt hemmen, muß man in diesen Fällen auf die Konglutination und Hämagglutination zurückgreifen. Wir halfen uns zunächst dadurch, daß wir diese Sera auf 60° C im Wasserbade erhitzen und dadurch einen Teil der antikomplementären Stoffe vernichten. Wenn dieses Mittel nicht zum Ziel führt, leisten uns die Hilfsmethoden gute Dienste.

Die Präzipitation ist wenig zur Anwendung gekommen und hat auch nur bedingten Wert, da die Normalpräzipitine beim Pferde störend wirken. Lenfeld stellte nach Art der Ascolischen Präzipitationsreaktion am Kadaver Versuche an und will die Präzipitation bei allen untersuchten rotzigen Pferden positiv befunden haben.

Während des Krieges gaben Meinicke und Bley eine Ausflockungsmethode bekannt, mit der sie beim akuten Rotz gute Erfolge erzielt haben wollen. In Aufnahme ist die Methode nicht gekommen. Nach



meinen eigenen Erfahrungen haften der Methode Mängel an, die eine allgemeine Einführung verbieten.

Auch die Fällungsmethode von Sachs und Georgi habe ich in meinem Laboratorium von Gilbricht beim Rotz versuchen lassen. Die Methode hat sich für Rotzuntersuchungen als nicht brauchbar erwiesen, ebenso wie die sogenannte Säuremethode Kranichs.

Auch Versuche Friedbergers, Scherns, Schütz', Waldmanns usw., die Anaphylaxie für die Diagnose der Rotzkrankheit zu verwenden, haben ein negatives Resultat ergeben. Ich selbst habe Rotzpferde kurz vor der Tötung mit 10 ccm und mehr abgetöteter Rotzbazillenabschwemmung intravenös behandelt und auch bei der Behandlung mit Rotzserum, Mallein, Farase usw. auf anaphylaktische Anfälle geachtet und bin zu keinem Resultat gelangt, das die Diagnose hätte stützen können.

Das Dialysierverfahren nach Abderhalden ist von Abderhalden selbst zur Rotzdiagnose herangezogen worden, ebenso haben sich Mießner und Immisch mit negativem Erfolg damit beschäftigt.

Ueber den Wert der Meistagminreaktion beim Rotz äußert sich Wegner abfällig.

Neben der Blutentnahme für die serologische Blutuntersuchung war die Ausführung der Malleinaugenprobe während des Weltkrieges wohl eine der häufigsten Arbeiten des deutschen Veterinäroffiziers. Es dürfte deshalb von Interesse sein, die Wertigkeit der Malleinaugenprobe von einem Pferdmaterial kennen zu lernen, wie es bisher wohl kaum zusammengestellt war und werden wird.

Meine Erfahrungen, die ich in gemeinschaftlicher Arbeit mit den Stabsveterinären Dr. Bierbaum und Dr. Eberbeck in der Tierseuchenforschungsstelle Ost über die Malleinaugenprobe gesammelt und erweitert habe, will ich kurz mitteilen.

(Folgt Mitteilung der Ergebnisse, die in der Zeitschr. f. Veterinärkunde 1920 — Oktoberheft — ausführlich wiedergegeben sind.)

Erwähnen möchte ich hierbei, daß Mallein, per os verabfolgt, selbst in hohen Dosen von 50 ccm, bei rotzfreien Pferden keinen Einfluß auf das Blutbild ausübt, d. h. Antistoffe durch Komplementbindung etc. nicht nachweisbar sind.

Ueber die Rotzempfindlichkeit der übrigen Tierarten haben wir im Kriege ebenfalls Erfahrungen sammeln können. Wir haben bestätigt gesehen, daß Esel und Maultiere an Rotz erkranken, und zwar meist akut. Spontane Erkrankungen von anderen Tieren wie Rinder, Schafe, Schweine usw., sind nicht mitgeteilt worden. Bierbaum und Eberbeck haben in der Tierseuchenforschungsstelle Ost experimentell nachgewiesen, daß Schaf und Rind durch Injektion von lebenden Rotzbazillen infiziert werden können. Von Interesse ist bei diesem Versuch die Tatsache, daß bei einem Kalbe, das 39 Tage nach der Infektion einging, schon verkalkte Rotzknoten in beiden Hoden nachgewiesen wurden. Die Verkalkung der Rotzknoten kann deshalb unter Umständen schneller vor sich gehen, als man wohl im allgemeinen annimmt. Meine beiden Mitarbeiter haben sich dann auch mit Infektionsversuchen von Meerschweinchen beschäftigt und, wie schon Mießner, nachgewiesen, daß Meerschweinchen nicht als erstklassiges Versuchsmaterial zu betrachten sind, da nur 19,67 Proz. an Impftroz erkrankten. Weiter wiesen die beiden Forscher nach, daß das Pferd empfänglicher als das Meerschweinchen ist. Verkalkte Rotzknoten führten weder beim Meerschweinchen noch

beim Pferde eine rotzige Erkrankung herbei. Bei Infektion mit alten verkästen Rotzknoten sind von den Meerschweinchen 2,63 Proz. rotzig erkrankt; ein mit großen Mengen verkäster Rotzknoten infiziertes Pferd erkrankte zwar an Rotz, der Zerlegungsbefund zeigte jedoch, daß der rotzige Prozeß innerhalb 9 Wochen nur geringe Ausbreitung erfahren hatte. Bei dieser Gelegenheit möchte ich die Versuche Marxers erwähnen, der nachwies, daß  $\frac{1}{10000}$  Oese Rotzbazillen die kleinste tödliche Dose bei intraperitonealer Applikation für das Meerschweinchen darstellt. Beim Pferde schließt Marxer, daß subkutan einige Rotzbazillen zur Infektion genügen, da er keine Unterschiede fand, wenn er den Pferden  $\frac{1}{10000}$  bis  $\frac{1}{250000}$  Normalöse Rotzbazillen subkutan injizierte.

Mäuse und Ratten scheinen spontan nicht an Rotz zu erkranken, da mir in der Tierseuchenforschungsstelle Ost nie ein Tier dieser Art zu Gesicht gekommen ist, das rotzige Krankheitsherde aufwies. In den Rotzstallungen wimmelte es aber von diesen Ungeziefern, und wir hatten häufig Gelegenheit, diese Tiere zu fangen und zu sezieren.

Daß die Feldmaus im übrigen bei künstlicher Infektion an Rotz erkranken kann, haben ebenfalls Bierbaum und Eberbeck bestätigt. Sie konnten aber nicht die von Loeffler hervorgehobene besondere Empfänglichkeit der Feldmäuse für Rotz feststellen. Auch das Meerschweinchen erkrankt spontan nach meinen Versuchen kaum an Rotz. In den Käfigen, in denen ich die Meerschweinchen mit ausgebreitetem Haut- und Organrotz hielt, habe ich nicht-behandelte Kontrollen gehalten und nach dem Versuch in die ungereinigten Käfige abermals gesunde Meerschweinchen ausgesetzt. Keins dieser Tiere ist in einer mehrwöchigen Beobachtungszeit erkrankt und zeigte weder serologisch noch bei der Sektion Anzeichen der Rotzkrankheit.

Der Rotz ist im großen und ganzen überhaupt nicht so infektiös, wie man bisher immer angenommen hat. Wenn man gemeinsame Tränk- und Futtervorrichtungen vermeidet, kann ein rotzkrankes Pferd oft monatelang in einem Pferdebestand stehen, ohne eine weitere Infektion zu bedingen.

Auch der Mensch ist nur stark gefährdet, wenn er sich mit Rotzkulturen oder Sektionen rotziger Pferde beschäftigt. Die meisten Unglücksfälle haben sich bekanntlich im Laboratorium ereignet. Bei den Personen, die mit rotzkranken Tieren umgehen, ist eine Erkrankung an Rotz immerhin eine Seltenheit. In unserer Forschungsstelle, die 3 Jahre lang bestand und in der durchschnittlich fast ständig 100 Rotzpatienten untergebracht waren, ist bei einem Bestand von ca. 120 Mannschaften nur 1 Infektion vorgekommen. Die geringe Gefahr, die bei der Rotzinfektion des Menschen besteht, sobald er die Vorschriften beachtet, haben es uns ermöglicht, daß sogenannte Rotzgüter und Rotzkolonnen eingerichtet werden konnten, in denen die rotzkranken Pferde noch wirtschaftlich ausgenutzt wurden.

Die Rotzkrankung des Menschen gleicht im übrigen derjenigen der Pferde. Häufiger scheint sich allerdings beim Menschen Hautrotz einzustellen. Durch die serologischen Methoden läßt sich beim Menschen die Diagnose ebenso sicher und gut stellen, wie beim Pferde. Nach meinen Untersuchungsergebnissen und der übrigen bekannt gewordenen Mitteilungen ist nur bei der Agglutination zu beachten, daß beim Menschen Werte über 100 als verdächtig anzusehen sind. Das gesunde menschliche Serum zeigt mit Rotzbazillen nur einen Agglutinationstiter von etwa 50. Ich würde empfehlen, von der Komplementbindung zur

Rotzdiagnose beim Menschen noch viel häufiger Gebrauch zu machen und sich nicht auf die bakteriologische Diagnose allein zu beschränken. Trotz mehrfacher Bemühungen war es mir nicht möglich, eine Zusammenstellung aller menschlichen Rotzfälle dieses Krieges zu erlangen. Ich glaube aber kaum, daß die Zahl 50 erreicht wird. Von den mir bekannt gewordenen Fällen haben die meisten tödlich geendet. Wichtige Aufschlüsse über das Fortschreiten einer Infektion geben uns die Aufzeichnungen des an Rotz gestorbenen Oberstabsveterinärs Rackette, der sich bei einer Sektion infizierte. Der erwähnte menschliche Rotzfall aus der Tierseuchenforschungsstelle wurde chronisch und wurde als abgeheilt betrachtet, wenigstens wurde der Soldat als kv. zur Truppe entlassen. Ein unglücklicher Zufall spielte einem Offizier virulente Rotzbazillen in die Hand. Beim Öffnen eines Röhrchens infizierte er sich dadurch, daß die abspritzende Flüssigkeit auf die Mundschleimhaut gelangte. Der betreffende Offizier ist nach langem Krankenbett gestorben. Auch bei diesem Fall entwickelte sich Hautrotz.

Für die geringe Infektiösität des Blutes rotzkranker Pferde, die durch vielseitige Versuche erwiesen worden ist, sprechen außerdem die praktischen Erfahrungen der Blutuntersuchungsstellen. Trotzdem im Kriege etwa 15 Millionen Blutproben zur Untersuchung kamen, unter denen sich beinahe 40 000 Rotzsera befanden, ist niemals eine Laboratoriumsinfektion beobachtet worden, auch niemals beobachtet worden, daß sich die Blutentnehmer infiziert haben. Dabei muß man bedenken, daß die Entnahme der Proben, die Abfüllung und Reinigung der Blutröhrchen nicht immer unter Bedingungen erfolgen konnte, die man vom Standpunkte der Hygiene aus verlangen muß.

Seuchenhaft ist der Rotz unter unseren Soldaten, trotz der zeitweilig schweren Verseuchung einzelner Pferdebestände, nie aufgetreten. Es handelte sich stets nur um Einzelerkrankungen, von denen aus auch niemals eine Weiterinfektion erfolgt ist. Erkrankungen von Sanitätspersonal, das rotzkranken Menschen pflegte, sind mir im Kriege nicht bekannt geworden und auch in der Kriegsliteratur nicht verzeichnet.

Diese Mitteilungen sollen nun aber nicht etwa dazu dienen, dem Rotz sein gefährliches Gewand zu nehmen, da Unglücksfälle in größerer Anzahl wohl nur dadurch vermieden worden sind, daß die Seuchenvorschriften peinlich innegehalten wurden. Es wird auch in Zukunft beim Umgang mit Rotzpatienten und besonders bei Laboratoriumsarbeiten mit Rotzkulturen und bei den Sektionen die allergrößte Sorgfalt innegehalten werden müssen.

#### Wie verhält es sich nun mit der Heilung der Rotzkrankheit?

Es dürfte Ihnen bekannt sein, daß man bis 1914 in Deutschland im Gegensatz zum Auslande annahm, daß der Rotz eine ständig fortschreitende Krankheit ist und Totalheilungen, wenn nicht unmöglich, so doch zu den größten Ausnahmen zählten. Die Mitteilungen Mrowkas aus China über Rotzheilung fanden in Deutschland nur wenig Anklang. Während der Kriegszeit haben wir nun aber gesehen, daß der Rotz sicher heilbar ist, und wir selbst hatten in der Tierseuchenforschungsstelle die beste Gelegenheit, umfangreiche Studien über die Bedingungen der Heilbarkeit des Rotzes anzustellen. Nach der Statistik Eberbecks befanden sich unter 230 durch biologische und anatomische Untersuchung

als zweifellos rotzkrank befundenen Pferden 65 = 28,26 Proz. Fälle, die keine frischen rotzigen Veränderungen zeigten, bei denen also die Rotzkrankheit zum Stillstand resp. zur Abheilung gekommen war. Diese Prozentzahl ist unter gewöhnlichen Verhältnissen geringer, da uns in der Tierseuchenforschungsstelle ein ganz besonders ausgesuchtes Material zur Verfügung stand, d. h. meist Pferde mit biologischen Reaktionen ohne klinisch erkennbare Symptome und da von den untersuchten Pferden eine größere Anzahl zu Heilversuchen benutzt worden sind. Jedenfalls aber darf man geheilte Rotzpatienten nach den Kriegserfahrungen nicht mehr als Ausnahmen betrachten.

Wir wissen jetzt, daß die Rotzknoten in den inneren Organen verkalken und bis zur bindegewebigen Vernarbung abheilen können. Aus diesen Untersuchungen Eberbecks ergibt sich ferner, daß der Rotz in den Lungen häufiger in Form von rotzigen Pneumonien auftritt und diese Pneumonien nur schwer unter Bildung von Bindegewebsnarben oder unter Bildung von abgekapselten Höhlen abheilen. Bei dieser Gelegenheit möchte ich auf die Statistik Eberbecks hinweisen, die uns zeigt, worauf der Obduzent bei der Sektion zu achten hat. Nach dieser Statistik ist z. B. die Lunge in nahezu allen Fällen Sitz rotziger Veränderungen, und trotzdem muß Eberbeck den primären Lungenrotz verneinen. Die retropharyngealen, submaxillaren und cervikalen Lymphknoten bilden Prädilektionsstellen erster Ordnung, wogegen parasitäre Veränderungen hier niemals von Eberbeck festgestellt wurden. In der Darmschleimhaut hat Eberbeck niemals rotzige Veränderungen nachgewiesen; in den mesenterialen Lymphknoten konnte Eberbeck in 5 von 304 Rotzfällen Rotzherde nachweisen. Eberbeck schließt daraus, daß der Rotzbazillus durch die Verdauungssäfte in der Regel unschädlich gemacht wird.

Die Untersuchungen Eberbecks waren für uns maßgebend bei der Beurteilung unserer Patienten, an denen wir unsere Heilversuche anstellten.

Ende des Jahres 1915 erhielt ich vom Königlichen Kriegsministerium auf Veranlassung des Oberbefehlshabers Ost den Auftrag, mit Heilversuchen bei rotzkranken Pferden zu beginnen. Maßgebend waren die großartigen Erfolge der Chemo- und Serotherapie, die bei anderen Krankheiten erzielt worden waren, sowie das reichhaltige Material rotzkranker Pferde. Mit meinen Mitarbeitern, den Stabsveterinären Dr. Bierbaum und Dr. Eberbeck, war ich mir von vornherein bewußt, daß die Aufgabe, den Rotz als eine durch ein spezifisches Bakterium bedingte Krankheit zu heilen, schwierig sein würde, aber doch nicht als ganz aussichtslos anzusehen sei.

Ich kann Ihnen heute leider nur einen kurzen Auszug aus den Protokollen geben. Dr. Bierbaum wird demnächst ausführlich über Heilversuche mit Salvarsanpräparaten berichten und unsere gemeinsame Arbeit soll im Wintersemester veröffentlicht werden.

Der Angriff auf die Rotzbazillen wurde auf 3 verschiedenen Wegen eröffnet, und zwar:

- I. auf dem Wege der Chemotherapie,
- II. " " " " Serumtherapie,
- III. " " " " Behandlung mit Rotzbakterien und deren Produkte.

Zuerst prüften wir die Angaben in der Literatur, die aus bekannten Gründen nur in ganz geringem Umfange vorhanden sind, nach. Die

Forschung konnte sich danach bisher nur wenig mit der Heilung des Rotzes beschäftigen, da die Arbeit mit Rotz wegen ihrer großen Gefährlichkeit und der leichten Uebertragbarkeit auf das Laboratoriumspersonal behördlicherseits nur bestimmten Anstalten überlassen werden konnte. Ein Fingerzeig für die chemotherapeutischen Versuche boten uns die Angaben, daß es gelungen war, bestimmte bakterielle Infektionen durch Chemikalien zu heilen. Ich erinnere nur an das Morgenrothsche Optochin bei Pneumokokkeninfektion, an die experimentellen Heilungsversuche von Laubenheimer, Schuster, Bierbaum u. a., die günstige Resultate bei Milzbrand und Rotlauf erzielten, und daran, daß Neufeld einwandfrei nachgewiesen hatte, daß es sich hierbei um eine ganz spezifische Einwirkung auf die betreffenden Bakterien handelte. Die Versuche Neufelds, daß die Wirkung von Optochin auf Pneumokokken und Salvarsan auf Milzbrand und Rotlaufbazillen im Tier- und Reagenzglasversuch ganz parallel verliefen, und vor allem, daß Salvarsan im Reagenzglasversuch für Rotzbazillen ein ausgesprochenes Abtötungsvermögen besaß, gaben uns die Veranlassung, Arsen und seine Derivate an erster Stelle einer Erprobung zu unterziehen.

Exzellenz Ehrlich, den Höchster Farbwerken und der Firma Merck bin ich zu größtem Dank verpflichtet, daß sie uns bereitwilligst und kostenlos ihre Präparate und Erfahrungen zur Verfügung stellten und ich habe auch Herrn v. Wassermann und Brieger in dieser Richtung Anregungen zu verdanken.

Mit Salvarsan und Verbindungen von Salvarsan mit Schwermetallen wurden im ganzen 20 Rotzpferde behandelt, und zwar:

- 2 mit Alt-Salvarsan
- 2 „ Neo-Salvarsan
- 4 „ Salvarsan-Natrium
- 4 „ Kupfer-Salvarsan
- 3 „ Kupfer-Salvarsan-Natrium
- 1 „ Silber-Salvarsan-Natrium
- 4 „ Quecksilber-Salvarsan-Natrium.

All diese Mittel wurden den Pferden intravenös verabfolgt. Von diesen Pferden blieb 1 Pferd am Leben, 19 Pferde sind getötet resp. verwendet. Die Behandlungsdauer schwankte von 7—110 Tagen, die verabfolgten Dosen betrugen bis 81 g; interessant ist, daß letztere hohe Dosis von Salvarsan-Natrium einem Pferde innerhalb 8 Tagen durch Stabsveterinär Dr. Bierbaum ohne Schaden verabfolgt werden konnte, daß dieses Pferd, aber wie auch alle übrigen, bei der Sektion keine Heilungsvorgänge aufwies, die als besonders charakteristisch für das angewendete Mittel anzusehen waren.

Es reagierten bei der Komplementbehandlung von diesen Tieren 10 positiv, 19 bei der Konglutination und Hämagglutination, 7 bei der Agglutination und 17 bei der Malleinaugenprobe. Bei der Sektion wurde 1mal frischer Rotz, 14mal alter und frischer Rotz, 2mal nur alter Rotz mit Verkalkung und 1mal kein Rotz nachgewiesen, 1 Pferd überlebte. Es kamen also von den 19 getöteten Pferden nur 3 Pferde für die Heilung in Betracht, von denen 2 als nur zweifelhaft geheilt zu betrachten sind. Das Resultat war demnach als so ungünstig anzusehen, daß von weiteren Versuchen Abstand genommen wurde.

Als weitere Arsenpräparate wurden Arsenophenylglycin und Arsalyt verwendet. Bei Arsenophenylglycin schwankten die Dosen zwischen 2 und 35 g, die Behandlungstage zwischen 8 und 24. Im ganzen wurden 10 Pferde mit diesen Mitteln behandelt. Alle mit Arsenophenylglycin

behandelten Pferde sind getötet resp. gestorben, dabei wurde 1mal frischer Rotz, 4mal alter und frischer Rotz und 2mal alter Rotz mit Verkalkung nachgewiesen.

Eines von den beiden letzten Pferden zeigte pneumonische Erscheinungen, so daß eine fragliche Heilung vorliegt. Es kann von 7 Pferden nur 1 als geheilt betrachtet werden. Aus diesem Grunde wurde auch dieses Mittel zu den Akten gelegt.

Mit Arsalyt wurden 3 Pferde behandelt, und zwar erhielten alle 3 je 36 g im Verlaufe von 133 Tagen intravenös. 2 von diesen Pferden zeigten alten Rotz, 1 mit Verkalkung, das 3. Pferd, das positiv bei der Komplementbindung, Konglutination und Hämagglutination, zweifelhaft bei der Malleinaugenprobe und negativ bei der Agglutination reagierte, erwies sich bei der Sektion als rotzfrei, aber mit Sarkomatose behaftet.

Weitere Arsenpräparate, die als 453, 455 und K. 464 von den Höchster Farbwerken zur Verfügung gestellt wurden, kamen bei 5 Pferden zur Anwendung. Von K. 464 erhielten 3 Pferde je 23 g in 29 Tagen intravenös. Diese Pferde wiesen bei der Sektion einmal frischen und alten und 2 Mal nur alten Rotz mit Verkalkung auf. Von dem Präparat K. 455 erhielt ein Pferd in 166 Behandlungstagen 140 g subkutan. Sektion: alter Rotz; K. 453 und zwar 130 g in 166 Tagen erhielt ebenfalls ein Pferd subkutan. Sektion: alter und frischer Rotz.

Zusammenfassend kann also über die Wirkung der Arsenikalien gesagt werden, daß eine besondere auffällige Heilwirkung beim Rotz der Pferde nicht zu erreichen gewesen ist.

Auch Farbstoffe allein oder in Verbindung mit Metallen kamen zur Anwendung. Es wurden 2 Pferde mit 40 und 66 g Methylenblau (Höchst) intravenös in 68 und 100 Tagen behandelt, die bei der Sektion neben altem auch frischen Rotz aufwiesen. Nach der Injektion waren sämtliche Schleimhäute tiefblau gefärbt und man konnte auch bei den Blutausstrichen, die gleich nach der Injektion aus der entgegengesetzten Jugularis entnommen waren, blaufärbte rote Blutkörperchen nachweisen. Das ungünstige Resultat bei den beiden Pferden genügte uns, um auch dieses Mittel zu verwerfen. Von 3 mit Methylenblausilber, und zwar 2mal je 12 und 1mal 10 g intravenös in 36—43 Tagen verabfolgt, ergab bei der Sektion 2mal frischen und alten und 1mal nur alten Rotz, daher wurden weitere Versuche mit diesem Mittel nicht angestellt. Von weiteren Farbstoffen kam dann noch Tryposafrol zur Anwendung, ein Safraninfarbstoff, den uns Geheimrat Brieger gefälligst zur Verfügung stellte. 3 Pferde bekamen je 3 g intravenös und verendeten meist kurze Zeit nach der Injektion. Alle 3 Pferde wiesen Pneumonien und frische rotzige Veränderungen auf. Ein Vorschlag von Geheimrat Brieger, das Mittel per os zu verabfolgen, mußte abgelehnt werden, da ein besonderer Erfolg von dieser Applikationsmethode nicht zu erwarten war, zumal da eine solche Behandlungsart in praxi mit zu großen Gefahren für den Behandelten verknüpft ist.

Die zeitweilig beobachtete günstige Beeinflussung der rotzigen Prozesse bei der Behandlung von Kupfersalvarsan ließ vermuten, daß dem Kupfer dabei eine besondere Rolle zukam. Es wurden deswegen Kupferpräparate zur Anwendung gebracht, in denen Kupfer in möglichst ungiftigen Verbindungen enthalten war. Geheimrat v. Wassermann überließ uns nach Rücksprache eine Nukleinkupferverbindung und eine Alaninkupferverbindung. Mit diesen Mitteln wurden 8 Pferde intravenös behandelt, und zwar in Mengen von 100—200 ccm. Alle 8 Pferde zeigten

positive serologische Reaktionen und bei der Sektion alte und frische rotzige Veränderungen. Da die Behandlung sich auf einen Zeitraum bis zu 74 Tagen erstreckte und Heilungen nicht beobachtet wurden, wurde auf weitere Versuche mit den Mitteln verzichtet. Ebenso ungünstig verliefen Versuche mit einer Pepton-Kupferverbindung, die sich die Tierseuchenforschungsstelle selbst herstellte. 4 damit behandelte Pferde zeigten bei der Sektion keine Heilungsvorgänge, die mit dem Mittel in Verbindung zu bringen waren. Mit Silberpräparaten wurden gleichfalls Behandlungsreihen angesetzt, und zwar erhielten 3 Pferde Arg. Kal. cyanat in Dosen von 0,4—1,4 g in 50—187 Tagen intravenös verabfolgt. Alle diese Tiere zeigten später bei der Sektion neben alten, vorwiegend frische rotzige Veränderungen. Auch mit einem Goldpräparat, dem Aurokantan der Höchster Farbwerke, das ein Kondensationsprodukt von Kantharidin mit Aethylendiamin, an das Goldcyan gebunden ist, darstellt, und das chemisch als Kantharidyläthylendiaminaurocyanid aufzufassen ist und von seinen Darstellern Spiess und Feldt als ein Spezifikum gegen Tuberkulose empfohlen wird, wurden Versuche angestellt. Ein Pferd erhielt 15 ccm im Laufe von 14 Tagen intravenös, ein zweites 265 ccm im Laufe von 214 Tagen. Beide Pferde wiesen bei der Sektion neben alten auch frische rotzige Veränderungen auf.

Ein weiteres Präparat der Höchster Farbwerke, und zwar das Alival, ein organisches Jodpräparat, das nach seiner chemischen Konstitution als 3 Jod 1.2.dihydroxipropan zu bezeichnen ist und einen Jodgehalt von 63 Proz. enthält, wurde bei 2 Pferden in Mengen von 120 und 340 g im Laufe von 49 resp. 110 Tagen intravenös verabfolgt. Bei dem mit 120 g behandelten Pferde wurde bei der Sektion alter und frischer Rotz nachgewiesen. Das zweite Pferd zeigte bei der Sektion alten Rotz.

Durch die Kgl. Militär-Veterinär-Akademie wurde der Forschungsstelle das Geheimmittel eines Chemikers Dr. Klaus zu Versuchszwecken auf Befehl des Kriegsministeriums zur Verfügung gestellt. 4 damit behandelte rotzkranken Pferde zeigten bei der Sektion so ausgebreiteten Rotz, wie man ihn sonst selten zu sehen bekommt.

Auch das schon vorher erwähnte Optochin, das Morgenroth mit Erfolg bei Pneumokokkeninfektion verwendete, wurde in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen. Es wurden damit 2 Pferde behandelt, die 17 bzw. 23 g intravenös in einem Zeitraum von 61 und 90 Tagen erhielten. Beide Tiere sind verendet und zeigten bei der Sektion neben alten rotzigen Erscheinungen auch solche jüngeren Datums. Es wurden auch gleichzeitig 2 Pferde mit Chinin behandelt, und zwar in Dosen von 12 und 15 g in 76 resp. 97 Tagen. Das mit 12 g behandelte Pferd verendete und zeigte bei der Sektion frischen und alten verkalkten Rotz. Da das andere Tier bei der Komplementbindung vor der Behandlung wenig komplementbindende Stoffe im Blute aufwies, ist anzunehmen, daß der Heilungsprozeß schon vor der Behandlung eingesetzt hatte.

Von Merck-Darmstadt wurde auch versuchsweise das bekannte Fibrolysin zur Verfügung gestellt, da Merck bei seinen Serumpferden die Beobachtung gemacht hatte, daß dieses Mittel bei schweren bakteriellen Prozessen einen gewissen heilenden Einfluß ausüben sollte. Wir erhielten Röhrchen mit 11,5 ccm Inhalt und behandelten je 2 Pferde mit 19 Röhrchen im Laufe von 27 Tagen und zwar iv. Von diesen Pferden zeigten 3 bei der Sektion frischen und alten Rotz, während ein Pferd als geheilt zu betrachten war, da es nur verkalkte Rotzherde

aufwies. Dieses Pferd ist aber auch zu denen zu rechnen, die schon vor der Behandlung wenig reagierten und ist deshalb nicht durch die Behandlung, sondern spontan abgeheilt.

Da Einspritzungen von Pepton und Aleuronat bei Tieren bekannterweise eine ausgesprochene Leukozytose hervorrufen und Metschnikoff die Behauptung aufstellte, daß die Leukozyten Toxine und Antitoxine resorbieren und Robert Koch auf Grund dieser Tatsachen Versuche bei tuberkulösen Individuen angestellt hatte, wurden versuchsweise 8 Pferde, und zwar 5 mit Pepton und 3 mit Aleuronat behandelt. Die 5 Peptonpferde erhielten 120–330 g iv. und zwar in einem Zeitraume von 97–160 Tagen. 3 dieser Pferde zeigten bei der Sektion alten und frischen Rotz und zwei nur verkalkten Rotz. Auffällig bei dieser Behandlungsart ist die Beeinflussung der komplementablenkenden Stoffe. Man kann nämlich nachweisen, daß nach einigen Einspritzungen die Tiere erst paradox und schließlich negativ reagieren. Diese auffällige Abnahme der komplementbindenden Stoffe, die bei den bisher angegebenen Arzneimitteln nicht beobachtet wurde, steht aber leider in keinem Zusammenhang mit den anatomischen Veränderungen, da diese trotzdem stark ausgebildet sein können. Gleiche Erfahrungen wurden bei den 3 mit Aleuronat behandelten Pferden gemacht. Die 3 Pferde erhielten 6, 11 und 21 g iv. in 8, 62 und 126 Tagen, während die mit 6 und 11 g behandelten neben altem Rotz auch frische rotzige Veränderungen aufwiesen, zeigte das mit 21 g behandelte nur alten verkalkten Rotz. Auch dieser Fall wird als ein Zufallsbefund betrachtet. Die Firma Merck stellte dann noch ein Mittel „Protosan“, ein Albumosepräparat zur Verfügung, daß bei Brustseuche günstige Erfolge gezeigt haben sollte. 4 damit behandelte Pferde, die das Mittel iv. erhielten, verendeten und zeigten bei der Sektion frische rotzige Veränderungen. Ein weiteres Präparat von Merck, ein Tierkohlepräparat „Incarbon“ von dem 1 Pferd 50 Ampullen innerhalb 25 Tagen iv. erhielt, zeigte keinen heilenden Einfluß auf die rotzigen Prozesse.

Die bei einigen Fällen von Rotz beobachteten günstigen Resultate einer Quecksilberbehandlung ließen es angezeigt erscheinen, die Wirkung dieses Metalles und seiner Verbindungen auch bei unseren Versuchen zu erproben. Zu diesem Zwecke erhielten 26 Pferde die gebräuchliche Quecksilbersalbe als kutane Einreibung verabfolgt, und zwar konnte die Beobachtung dabei gemacht werden, daß Pferde gegen diese Einreibungen nicht so empfindlich sind, wie im allgemeinen angenommen wird. Wir konnten den Pferden bis 400 g Hg-Salbe im Laufe von 51 Tagen verabfolgen, ohne besondere bedrohliche Erscheinungen zu erhalten. Im allgemeinen wurde die Behandlung nach dem Gewicht des Pferdes eingerichtet. Wir behandelten die Pferde meist so, daß sie 8 Schmiertage und 8 Ruhetage hatten und verabfolgten dann täglich Dosen von 3 bis 20 g. Diese 26 Pferde sind sämtlich verendet resp. getötet worden; 14 Pferde zeigten alten, meist verkalkten Rotz, bei einem waren keine spezifischen rotzigen Veränderungen nachzuweisen. Dieses Pferd zeigte vorher wochenlang hochgradige Ablenkung und bei der Sektion 8 alte bronchopneumonische Herde. Bei 12 Pferden wurden neben alten rotzigen Veränderungen noch frische Herde nachgewiesen. Es war dies ein immerhin so günstiges Resultat, daß es sich verlohnte, weitere Untersuchungen mit Quecksilber und seinen Verbindungen anzustellen.

Wir setzten uns deshalb mit der Firma Merck in Verbindung und erhielten zuerst ein Präparat, das den Namen „Modenol“ führt, und eine



injektionsfertige Lösung von Hg-Salicylat und Monomethyldinatrium-arsenat darstellt. Wir benutzten für dieses Mittel 22 Versuchspferde. Von den ersten 10 damit behandelten Pferden, die in 104 Tagen bis 510 ccm iv. erhielten, erwiesen sich nach der Tötung nicht weniger als 7 geheilt. Die übrigen zeigten alte und frische rotzige Veränderungen. Später wurden die Lösungen verstärkt und die Präparate als M 3, M 6, M 12, M 15 bezeichnet. Auch wurde das Arsen dem Präparate entzogen und ein Präparat H 3, H 6, H 12 und H 15 benutzt. Mit diesen Präparaten wurden 4 Pferde behandelt. Die zuerst so erfreulichen Resultate konnten späterhin bei den übrigen Pferden nicht mehr beobachtet werden. Es bleibt dahingestellt, ob dieses an einer anderen Zusammensetzung des gelieferten Mittels oder an der Virulenz der Rotzbakterien bei den später benutzten Tieren lag.

Eine Verbindung von Quecksilber und Fluoreszin „Eocuryl“ genannt, ebenfalls von Merck, kam bei 5 Pferden zur Anwendung, und zwar in Mengen bis zu 655 ccm im Laufe von 116 Tagen. Das Mittel besitzt hämolytische Wirkung bei intravenöser Verabreichung und kann daher nur in begrenzten Mengen verabfolgt werden. Jedenfalls haben uns die Sektionen kein besonders günstiges Resultat geliefert. Weiterhin sind dann Versuche mit Hg-cyanat, Hg-oxycyanat und Hg-salicyl ausgeführt worden. Die Tiere zeigten bei der Sektion zum größten Teil frische und alte rotzige Veränderungen. Es kamen zur Anwendung:

Hg-cyanat	2 Pferde	1,61 g in 142 Tagen
		1,11 „ „ 87 „
Hg-oxycyanat	1 Pferd	1,01 „ „ 80 „
Hg-salicyl	2 Pferde	je 4,9 „ „ 260 „

Merck hat uns weiterhin ein Hg-Präparat Cystin-Hg und cystinsaures Hg überlassen, die zur Behandlung von Typhusbazillenträgern empfohlen worden sind. Mit diesen Präparaten wurden 11 Pferde behandelt, und zwar 7 mit Cystin Hg und 4 mit cystinsaurem Hg. Bei der Sektion dieser 11 Pferde wurde in 5 Fällen alter verkalkter Rotz festgestellt, während die übrigen 6 Pferde noch neben den alten rotzigen Veränderungen frische Rotzherde aufwiesen.

Von größtem Interesse waren nun Versuche, in denen die Quecksilberbehandlung mit einer Jodkalikur vergesellschaftet wurde. 2 Pferde, die im Laufe von 90 Tagen 175 resp. 252 g graue Salbe und 65 g Jodkali erhielten, hatten älteren verkästen und verkalkten Rotz. Ebenso wurde bei den Rotzpferden, die in 329 Tagen 41,5 g Jodkali per os erhielten, bei der Sektion nur verkäster und verkalkter Rotz nachgewiesen. Leider wurden diese Versuche durch die Auflösung der Forschungsstelle unterbrochen, so daß größere Versuchsreihen nicht angesetzt werden konnten. Es wird sich also empfehlen, der Quecksilber-Jodkalibehandlung in besonderen Fällen erhöhtes Interesse zu widmen.

Interessant ist bei der Behandlung mit Hg und seinen Verbindungen die Beobachtung, daß allmählich die komplementbindenden Stoffe vollkommen aus dem Blute schwinden können, ähnlich wie bei der Behandlung mit Pepton, daß aber trotz dieser negativen Reaktion noch schwere rotzige Veränderungen an den Organen vorliegen können, so daß man bei der Beurteilung derartiger Fälle am lebenden Pferd in die größten Verlegenheiten kommen kann. Es scheint wichtig, darauf hinzuweisen, da es im Bereiche der Möglichkeit steht, daß auch andere Arzneimittel.

die in der Praxis häufige Verwendung finden, eine solche Beeinflussung der Reaktionsstoffe hervorrufen können.

Bei der bekannten elektiven Wirkung des Malleins auf rotzige Prozesse schien eine Kombination von Mallein und chemischen Mitteln für eine Heilbehandlung gewisse Vorteile zu bieten. Man konnte annehmen, daß die nach der Malleininjektion eintretende reaktive Entzündung aller Rotzherde diese für einen Angriff des Arzneimittels besonders geeignet machen würde. Es wurden hauptsächlich Mallein- und Arsenpräparate und Mallein-Quecksilberpräparate gemeinsam verabfolgt. Bei all diesen Versuchen zeigte es sich aber, daß die Dosierung des Malleins außerordentlich vorsichtig gehandhabt werden muß, da bei Ueberdosierung des Malleins ein Akutwerden des Rotzes dabei die Regel ist, dem die Pferde schnell erliegen. Von den 15 behandelten Pferden zeigten alle 12 getöteten Pferde ganz frische rotzige Veränderungen. Auch die kombinierte Behandlung intravenös mit arsenhaltigen Mitteln und kutan mit Hg schwächt nach unseren Versuchen den Körper so, daß er seine Widerstandskraft verliert und die Rotzbazillen freie Bahn haben.

Das Mallein als Heilmittel gegen Rotz ist schon von den verschiedensten Forschern verwendet worden, besonders russische Veterinäre wollten beobachtet haben, daß rotzkrankte Pferde auf die wiederholten Malleineinspritzungen allmählich schwächer und schließlich gar nicht mehr reagierten, und daß etwa früher vorhandene klinische Erscheinungen allmählich verschwanden, oder daß derartige Pferde bei der späteren Sektion mehr oder weniger abgeheilte rotzige Veränderungen aufwiesen. Die Angaben über eine heilende Wirkung des Malleins in der Literatur widersprechen sich zum Teil direkt. Diese Schwankungen in den Versuchsergebnissen lassen sich wohl zwanglos auf wechselnde Virulenz des Rotzbazillus, die individuellen Verschiedenheiten der Versuchstiere und auf die verschiedene Art und Verwendung des Malleins zurückführen.

Verschiedenartige Meinungen über den Heilwert der Stoffwechselprodukte des Rotzbazillus gleichen denen über Tuberkulin. Nach unseren Versuchen scheint es, daß das Mallein allein und mit Serum gemischt, ferner abgetötete Rotzbazillen, auch die Farase, eine Mobilisation der Rotzbazillen hervorrufen und dadurch in vielen Fällen das chronische Stadium in das akute überführen.

Wir haben das Mallein bei 25 Versuchspferden nach allen Richtungen ausprobiert, haben den rotzkranken Pferden kleinste Dosen verabfolgt, die wenigstens der Temperatur nach vollkommen reaktionslos verliefen, haben versucht, die Pferde durch steigende Dosen von Mallein allmählich malleinfest zu machen, haben größere Dosen Mallein verwendet und sind immer wieder zu obigen ungünstigen Resultaten gelangt. Auch die von Marxer und Blumenthal empfohlene Farase hat uns in 4 Versuchen nur akut rotzkrankte Pferde geliefert, so daß diese Behandlung das sicherste Mittel zu sein scheint, um den in der Abheilung begriffenen Rotz wieder in das akute Stadium überzuführen. Auch die Versuche, Rotzbazillen durch Pepsinsalzsäure verdauen zu lassen und dieses Produkt dann zur Heilbehandlung zu verwerten, haben bei 6 Versuchspferden ebenso geendigt wie die Malleinversuche. Ganz gleich waren die Ergebnisse, wenn man versuchte, das Mallein durch artfremdes oder arteignes Serum abzuschwächen. Der Tierversuch, d. h. 7 mit Mallein + Rinderserum und 1 Pferd mit Mallein + Normalpferdeserum be-

handelte Versuchspferde, lehrte uns aber bald, daß der Rotzbazillus und seine Produkte ein ausgesprochenes Gift für den mit Rotz infizierten Körper darstellen.

Als letzte Versuchsreihe kam die Serumbehandlung in Betracht, und zwar wurden zuerst die Angaben in der Literatur nachgeprüft, ob artfremdes Eiweiß, besonders Rinderserum einen heilenden Einfluß auf die rotzigen Prozesse ausüben kann. Es hat sich bei einer großen Anzahl von Fällen gezeigt, daß normales Rinderserum und Rotzrinderserum, d. h. ein Serum von Rindern, die mit abgetöteten Rotzbazillen vorbehandelt waren, meist ein Akutwerden des Rotzes nach sich zogen. Ebenso wenig erfreuliche Resultate waren mit Meerschweinchenserum zu erzielen. Versuche mit arteigenem, Reaktionskörper enthaltendem Serum, die Heilung des Rotzes in günstigem Sinne zu beeinflussen, hatten ein ebenso ungünstiges Ergebnis. Von 10 auf diese Art und Weise behandelten Pferden, die teilweise 8 l Immunserum in 92 Tagen, teils intravenös, teils subkutan erhielten, zeigten 6 Pferde bei der Sektion noch frische rotzige Veränderungen.

Unsere Untersuchungen, die an einem reichhaltigen Material und mit den modernsten Mitteln ausgeführt werden konnten, lassen die zu überwindenden Schwierigkeiten hinreichend erkennen. Es ist uns danach nicht gelungen, ein Mittel gegen die Rotzkrankheit der Pferde zu finden, das sämtliche Pferde einer Versuchsreihe geheilt hat. Von den bisher gebrauchten Mitteln scheint dem Quecksilber und Jodkali eine gewisse Heilwirkung innezuwohnen. Wenn wir bei unseren Versuchen auch nicht alle Versuchstiere mit dieser Behandlung der Heilung zuführen konnten, so liegt dies wohl zum Teil in der Natur der Rotzkrankheit selbst. Konstitution der Versuchstiere, Virulenz des Erregers, Komplikationen, wie wir sie beim Rotze in Form von Pneumonien nicht selten vorfinden, spielen hier zweifellos eine große Rolle.

Ebenso wie die Suche nach einem Heilmittel für die Tuberkulose bisher vergeblich war und trotz der größten Arbeitsanspannung und trotz der größten Mittel erst die Anfänge gelegt sind, ebenso schwierig ist die Rotzheilung, ein ganz junges Kapitel der Heilwissenschaft; hoffentlich werden beide Fragen in absehbarer Zeit ihrer Lösung entgegengehen.

Immunisierungsversuche sind beim Rotz wiederholt vorgenommen worden. In den letzten Jahren sind besonders die Versuche von Blumenthal und Marxer mit Farase, d. h. durch Harnsäure abgetötete Rotzbazillen, bekannt geworden. DeJulin hat mit Farase anscheinend günstige Impferfolge erzielt. Bei den Nachprüfungen, die Marxer auf Veranlassung des Kriegsministeriums in der Militär-Veterinär-Akademie während des Krieges vornahm, hat sich Farase nicht bewährt, ebenso wenig wie die Behandlung mit Rotzbazillen, die durch Trikresol abgetötet waren. Marxer ist deshalb wieder zur Abtötung der Rotzbazillen mit 80-proz. Glyzerin zurückgekehrt und glaubt mit diesem Impfstoff eine erfolgreiche Immunisierung vornehmen zu können. Leider mußten die Versuche, die wir mit Marxer gemeinsam in der Tierseuchenforschungsstelle vornahmen, vorzeitig abgebrochen werden, so daß das Resultat aussteht. Später hat dann Marxer dieses Präparat auch zu Heilzwecken beim Menschen benutzt.

Pfeiler hat dann besonders während des Krieges die Immunisierung unseres Pferdebestandes gegen Rotz befürwortet.

Ich möchte mich mit Schnürer auf den Standpunkt stellen, daß Immunisierungsversuche beim Rotz zwar interessante wissenschaftliche Arbeiten sind, aber nicht zur praktischen Tilgung des Rotzes dienen. Für eine obligate oder selbst nur fakultative allgemeine Immunisierung aller Pferde eines Landes genügt die gegenwärtig vorliegende Grundlage der Immunisierung keineswegs. Ich stimme ferner Schnürer zu, wenn er eine Immunisierung der Pferde für überflüssig erklärt, da die Erfahrung lehrt, daß nach richtiger Durchführung der diagnostischen Verfahren in allen Fällen die kranken Tiere sicher ermittelt werden und das Wiederauftreten der Krankheit in solchen Beständen nicht beobachtet wird. Unter dem Pferdebestande der Heeresverwaltung ist der Rotz zurzeit eine seltene Erkrankung, dank der vorzüglichen diagnostischen Verfahren. Bei geregelten dienstlichen Verhältnissen werden wir in kurzer Zeit wieder den Standpunkt von 1914 erreicht haben, d. h. Rotz wird nur noch den Kriegsteilnehmern eine Kriegserinnerung sein.

#### Diskussion.

Miessner (Hannover): Die Spezifität der Komplementbindungsmethode beim Rotze steht außer Frage. Das hindert nicht, daß gelegentlich einmal bei anderen Infektionskrankheiten Bindungswerte beobachtet werden, die den Verdacht auf Rotz erwecken. Solche Fälle sind nach dem im Kriege gemachten großen Beobachtungsmaterial sehr selten, von dem Referenten aber gelegentlich bei einem mit Druse behafteten Pferde gesehen worden, dessen Serum ca. 4 Wochen lang den Bindungswert des Serums eines rotzigen Pferdes zeigte. Um die aspezifische Hemmung mancher Pferdeseren zu beseitigen, empfiehlt sich nach meinen Beobachtungen die Erwärmung auf 62° während einer halben Stunde. Das Ergebnis der Salvarsanversuche von Lührs stimmt mit den von Lange und mir erzielten Resultaten überein. Hiernach ist dem Salvarsan keine Heilwirkung beim Rotze zuzusprechen.

Die Anwendung der Konjunktivalprobe neben den biologischen Methoden, wie sie jetzt auch nach den reichen Kriegserfahrungen anerkannt wird, habe ich bereits im Jahre 1912 auf Grund zahlreicher eingehender vergleichender Untersuchungen empfohlen.

Jos. Koch: Einen Fall von Rotz beim Menschen habe ich im Arch. f. klin. Chir. Bd. 65. Heft 1 beschrieben. Es handelte sich um einen 45 Jahre alten Kreisierarzt, der beim Arbeiten mit Rotzkulturen das Mißgeschick hatte, ein Röhrchen fallen zu lassen, das zerbrach und den Inhalt über den Fußboden seines Arbeitszimmers verbreitete. Die der Arbeit beigegebene Abbildung zeigt in anschaulicher Weise die allgemeine Pustel- und Geschwürsbildung der Haut, sowie die erysipelatöse Schwellung des Nasenrückens als Zeichen des Nasenrotzes, der ebenfalls in diesem Falle vorhanden war.

Gildemeister beobachtete 4 Fälle von Menschenrotz, bei denen sich die serologischen Untersuchungsmethoden, insbesondere die Komplementbindungsreaktion, als wertvolle diagnostische Hilfsmittel erwiesen. In dem einen Falle, der nach 6-monatiger Dauer der Krankheit zur Genesung kam, wurde die Agglutinationsreaktion allmählich negativ und auch die Komplementbindungsreaktion lieferte nur geringe Werte. Dagegen gelang es, aus einem gegen Ende des 5. Krankheitsmonats noch bestehenden Rotzgeschwür Rotzbazillen durch den Tierversuch und kulturell nachzuweisen.

Pfeiler (a. G.): Die Blutuntersuchungen auf Rotz sind für die vergleichende Serodiagnostik von hervorragender Bedeutung. Sie geben uns in erkenntnistheoretischer sowie praktischer Hinsicht wertvolle Aufschlüsse über Fragen, die wir in der Humanpathologie nicht verfolgen können. Denn die serologische Diagnose Rotz oder Rotzverdacht gibt dem Veterinär in jedem Falle auf Grund gesetzlicher Bestimmungen die Möglichkeit einer Kontrolle am Sektionstisch. Die vergleichende Pathologie kann aus den an einem ungeheuer großem Tiermaterial gewonnenen Ergebnissen die wichtigsten wissenschaftlichen und praktischen Belehrungen ziehen. So sind die Arbeiten

von Wassermann über Komplementablenkung bei Syphilis auf der einen Seite die Ursache für den Fortschritt der Tierheilkunde in der Serodiagnose der Rotzkrankheit gewesen, auf der anderen Seite ist die Tierheilkunde in die Lage gesetzt worden, ihre Dankesschuld abzutragen, indem sie mit Hilfe der Komplementablenkung ihrer größeren Schwesterwissenschaft, der Menschenheilkunde, wertvolle neue Fingerzeige gegeben hat.

Auf manche anfechtbare Einzelheiten aus dem Vortrage von Lührs will ich mit Rücksicht auf die vorgeschrittene Zeit nicht eingehen. Nur das prinzipiell Wichtige soll hervorgehoben werden.

Die Komplementablenkung bei Rotz erscheint streng spezifisch. Wir haben aber gerade beim Rotz das Wesen der unspezifischen Reaktionen näher studieren gelernt.

Eine von mir gegen Rotz immunisierte, aber niemals mit lebenden Rotzbazillen in Berührung gekommene Stute zeigte, nachdem das Blutbild wieder negativ geworden war, beim Rossigsein bzw. der Trächtigkeit wieder positive Blutbefunde (Ueberempfindlichkeit, wieder wachgerufen durch nichtspezifische, physiologische Vorgänge.)

Die von mir aus rotzähnlichen, sicher nicht durch Rotzbazillen hervorgerufenen Veränderungen herausgezüchteten Coli-Stämme rufen bei jedem Pferde, dem sie parenteral einverleibt werden, einen Blutbefund hervor, der dem der Rotzkrankheit gleicht. Wir sind also jetzt in der Lage, scheinbar spezifische Reaktionen experimentell hervorzurufen.

Dies und die übrigen Beobachtungen geben uns ein Verständnis für die sogenannten unspezifischen Reaktionen. Der einmal überempfindlich gewordene Körper produziert aus den verschiedensten Anlässen immer wieder spezifische Substanzen. Das Problem der Spezifität ist als Wirkungskomplex ein und derselben Naturkräfte zu betrachten. Dabei entkleidet es sich seiner strengen Spezifität.

Die Verkalkung der Rotzknoten ist lange bekannt. Verkalkte Rotzknoten sind u. a. von Schütz schon 1910 demonstriert, unabhängig von Eberbeck auch von mir beschrieben worden.

Die „Inkubationszeit“ der Antikörper ist nicht selten eine viel längere, als von Lührs angegeben. Experimentell ist von mir gezeigt worden, daß nach enteraler Aufnahme geringer Mengen von lebenden Rotzbazillen — tote Bazillen verursachen bei nicht parenteraler Einverleibung keine Antikörperbildung — Antikörper sehr spät auftreten und bald wieder verschwinden können. In bestimmten Fällen kommt es bei der natürlichen Infektion überhaupt nicht zur Bildung von Antikörpern. Ausbreitung der Prozesse und Menge der Antikörper stehen in der Regel in keinem erfaßbaren Verhältnis.

Der diagnostische Wert des Meerschweinchen-Impfversuchs erfährt durch Ausführung der Blutuntersuchung bei infizierten Meerschweinchen eine Ergänzung. Nur etwa 25 Proz. der mit rotzverdächtigem Material geimpften Meerschweinchen erkranken an Rotz. Dagegen zeigen viele der Tiere, die mit solchem Material geimpft sind, ohne zu erkranken, einen positiven Blutbefund.

Die Heilung der Rotzkrankheit unter natürlichen Verhältnissen ist etwas, was früher unbegreiflicherweise nicht anerkannt worden ist. Im Tierhygienischen Institut zu Bromberg unter teilweise kombinierter Verwendung von Optochin bzw. Eukupin, Methylenblau und Natrium cacodylicum ausgeführte Versuche haben in einer ganzen Anzahl von Fällen zu Heilungen geführt. Namentlich die Wirkung des Methylenblaus auf Geschwüre war überraschend.

Die Lösung der Frage der Immunisierung scheint mir ein Nobile officium für die Tierheilkunde zu sein. Zweifellos kommt man bei geringer Ausbreitung der Krankheit im Lande mit rein veterinärpolizeilichen Maßnahmen aus. Der Abschaffung der Keulung soll nicht das Wort geredet werden. Wenn wir aber wissen, z. B. aus den Ausführungen von Lührs, daß die Krankheit in 28,26 Proz. der Fälle spontan heilt, dann ist die Tierheilkunde als Wissenschaft verpflichtet, dem Problem der Heilung und Immunisierung nachzugehen; es muß schon wegen der Uebertragbarkeit der Krankheit auf den Menschen weiterverfolgt werden. Die Keulung ist nur so lange ein durchführbarer Notbehelf gegen Krankheiten, als sie keine größere Ausbreitung haben, es sich um erste im Interesse der Allgemeinheit beschleunigt zu tilgende Seuchenfälle handelt und uns nach dem Stande der Wissenschaft andere Hilfsmittel nicht zur Bekämpfung zur Verfügung stehen. Sich, weil gekeult wird, auf den Standpunkt stellen zu wollen, deswegen brauchen wir keine weiteren Bekämpfungsversuche, ist ein Nihilismus, der der Würde der Medizin nicht entspricht. Wenn es mir gelungen ist, immunisierte Pferde mit steigenden Dosen von Rotzkulturen, in einzelnen Fällen bis zu 3 Agarkulturen zu füttern, und wenn z. B. ein Tier bei der Tötung nur 3 kleine Rotzknoten aufwies, so ist dies ein Beweis für die Möglichkeit einer Immunisierung gegen die Rotzkrankheit. Denn bei Fütterungsinfektionen erweist sich  $\frac{1}{2500}$  Oese als sicher krankmachende bzw. tödliche Dosis.

Die Veterinärmedizin hat daher die Verpflichtung, für den Fall des Ausbruchs eines neuen Krieges, im Interesse der Schlagfertigkeit unserer Armee, Mittel und Wege zu finden, um die, wie wir gesehen haben, bedrohliche Ausbreitung der Rotzkrankheit hintanzuhalten. Wir dürfen uns nicht damit genügen lassen, im Besitz vorzüglicher diagnostischer Verfahren, rotzkrankte Tiere zu töten, sondern müssen, getreu dem Leitwort Robert Kochs von der Verhütung der Krankheiten dafür sorgen, daß unsere Pferdebestände nicht erst von dieser Krankheit befallen werden.

Messerschmidt.

Poppe (Berlin, a. G.) macht zahlenmäßige Angaben über die Bewertung der verschiedenen serodiagnostischen Methoden. Von 737997 von einer militärischen Blutuntersuchungsstelle auf dem östlichen Kriegsschauplatz in den Jahren 1915/18 untersuchten Blutproben ergaben 2669 Pferde, die bei der Zerlegung mit rotzigen Veränderungen behaftet waren, folgende Blutuntersuchungswerte: Komplementablenkung positiv 99,02 Proz., KH-Reaktion positiv 89,13 Proz., Konglutination positiv 88,05 Proz., Agglutination positiv 29,97 Proz. Die Komplementablenkung steht bei der Ermittlung der rotzigen Pferde an erster Stelle, sowohl was die Sicherheit bei der Feststellung jedes einzelnen Falles, als auch was die Zuverlässigkeit der Methode anbelangt. Fehlergebnisse der Komplementablenkung 1 bis höchstens 2 Proz.

v. Wassermann: Aus dem vortrefflichen Referat des Herrn Lührs möchte ich folgenden Punkt hervorheben, der mir wissenschaftlich besonders wichtig erscheint. Wie Herr Lührs uns sagte, kann man als Antigen für die Rotzdiagnose ebensogut alkoholischen Extrakt aus Rotzbazillen wie wässrigen Extrakt benutzen. Bisher schien sich die Serodiagnostik des Rotzes prinzipiell von derjenigen bei Syphilis dadurch zu unterscheiden, daß man zu ersterer Antigen aus Kulturen nehmen mußte, während, wie bekannt, bei der Wassermannschen Reaktion als Antigen Lipoiden aus den normalen Organen verwendbar sind. Infolgedessen hat man den Standpunkt eingenommen, daß die Serodiagnostik des Rotzes eine spezifische Reaktion auf den Erreger sei und sich dadurch von der Wassermannschen Reaktion unterscheide. Wenn wir nun aber heute hören, daß auch bei Rotz alkoholische Extrakte verwendbar sind, so eröffnet das neue Ausblicke. Entweder müssen wir dann annehmen, daß die Rotzbazillen spezifische in Alkohol lösliche Lipoiden haben, oder es müssen andere Verhältnisse obwalten, die uns bisher noch nicht genügend bekannt sind und die näher studiert werden müssen.

Plaut weist darauf hin, daß nur solche Pferde als vom Rotz geheilt in der Statistik aufgeführt werden dürfen, bei denen eine Sektion die Heilung bestätigt hat. Er fragt an, ob dieser Grundsatz bei Aufstellung der Statistik maßgebend war.

## 12. Vortrag. Jos. Koch:

### **Zum Mechanismus der peritonealen Infektion, Transsudation und Resorption unter besonderer Berücksichtigung der Tätigkeit des großen Netzes (Omentum minus).**

Ueber die Vorgänge bei der Infektion der Bauchhöhle ist sehr viel geschrieben worden, aber dasjenige Organ, das bei diesen Prozessen die wichtigste Rolle spielt, das große Netz, ist bisher kaum berücksichtigt worden. Daß es ein bakterizides, ein Exsudations- und Resorptionsorgan ersten Ranges ist, ist fast gänzlich unbekannt.

Noch heute hält die Chirurgie, die sich mit der Physiologie und Pathologie der Bauchhöhle am meisten beschäftigen muß, an der irrthümlichen Auffassung Wegners fest, „daß die gewaltige Resorptionskraft des Peritoneums nur durch seine große Flächenausdehnung zu erklären sei“; und bei den Bakteriologen herrscht im allgemeinen die

Auffassung, daß die Bauchhöhle ein großer lymphoider Hohlraum ist, in welchem den Phagozyten und den Immunsubstanzen des Serums die Vernichtung der Keime zufällt.

Es gibt keinen Versuch, der die Tätigkeit und die Bedeutung des großen Netzes besser veranschaulicht, als den Tuscheversuch.

Spritzt man einem beliebigen Versuchstier, Affe, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Maus, eine entsprechende Menge einer Tusche-lösung in die Bauchhöhle, so findet sich nach 24 Stunden fast der ganze schwarze Farbstoff im großen Netz abgelagert, während das übrige Peritoneum parietale und viscerales von Farbstoff fast gänzlich frei ist. Eine Ausnahme macht nur das Centrum tendineum des Zwerchfelles, dessen Lymphbahnen ebenfalls Farbstoffteilchen, aber gegenüber dem Netz in ungleich geringerem Grade, aufgenommen haben. Diese resorbierende Tätigkeit des Zwerchfells war bereits von v. Recklinghausen und anderen festgestellt worden. Damit ist bewiesen, daß keineswegs die ganze Peritonealhöhle resorbiert, sondern, daß die Aufsaugung von Flüssigkeiten und korpuskulären Elementen von ganz bestimmten Stellen in der Bauchhöhle geleistet wird. Wie ein derartiges Netz aussieht, zeigt Redner an zwei Diapositiven von einem Meerschweinchen- und einem Kaninchennetz. Wichtig ist die Feststellung, daß der Farbstoff nicht auf, sondern im Gewebe des Netzes, und zwar in dem Lymphgefäßsystem sich befindet. Er sammelt sich hauptsächlich 1) entlang den Gefäßen, da, wo die größeren Lymphgefäße des Netzes verlaufen; 2) in dem lymphoiden Gewebe, das in Form kleiner und kleinster Lymphknötchen, sowie in der Form der zahlreich vorhandenen sogenannten Tâches laiteuses (Ranvier) oder Milchflecke vorhanden ist. Sie sind zusammengesetzt aus leukozytären einkernigen Wanderzellen.

Durch diese Versuche ist bewiesen, daß das große Netz 1) ein reichliches und gut ausgebildetes Lymphgefäßsystem besitzt, das mit Hilfe der Farbstoffversuche in anschaulicher Weise sichtbar gemacht werden kann, 2) daß die Menge des lymphoiden Gewebes, das in der Bauchhöhle vorkommt, eine recht erhebliche ist, und 3) daß dieses lymphoide Gewebe und deren Zellen mit einer großen Resorptionskraft und phagozytären Eigenschaften ausgestattet ist.

Man kann daher das große Netz als einen flächenhaft ausgebreiteten Lymphapparat der Bauchhöhle bezeichnen, eine Ansicht, die bereits von Ranvier, Weidenreich ausgesprochen ist. Dabei ist jedoch zu bemerken, daß diese Definition die Tätigkeit und die Bedeutung des Netzes nicht vollständig wiedergibt.

Es liegt auf der Hand, daß ein solches Organ bei den verschiedensten Infektionen der Bauchhöhle eine bedeutende Aufgabe zu erfüllen hat. In weiteren Versuchen kam es nun darauf an, 1) festzustellen, ob das Netz auch unabhängig von der übrigen Bauchhöhle eine selbständige Tätigkeit entfaltet, und 2) wie sein Verhalten zur übrigen Bauchhöhle ist.

Für diese Untersuchungen haben ich und mein Mitarbeiter Dr. Aoyama im Jahre 1913 eine Versuchsanordnung ausgearbeitet, die uns gestattete, die im Netz und der übrigen Bauchhöhle sich abspielenden physiologischen und pathologischen Vorgänge einer beginnenden Infektion unter Ausschaltung der übrigen Bauchhöhle, dem Auge möglichst sichtbar, zu verfolgen.

Das Prinzip der Versuchsanordnung ist, daß nach Durchtrennung der Haut wie bei einer Laparotomie zwei Querschnitte durch Muskulatur und Peritoneum angelegt

werden. Der eine liegt etwa in der Höhe der unteren Magengrenze, so daß das Netz bequem herausgezogen werden kann; der andere Querschnitt, etwas tiefer, dient zur Aufnahme eines kleinen Gefäßes, daß in die Bauchhöhle eingesetzt und durch eine Tabakebeutelnaht durch Muskulatur und Peritoneum gut und sicher umschnürt wird. Aus dem ersten Querschnitt wird dann das Netz vorgelagert und in das in die Bauchhöhle eingesetzte Gefäß sorgfältig hineingeschoben. Das Gefäß kann nun mit beliebiger Flüssigkeit, Farbstoff- oder Bakterienemulsionen, gefüllt werden. Während das Versuchstier auf dem Operationstisch sicher befestigt und das Gefäß gegen die Bauchhöhle gut abgeschlossen ist, lassen sich dann die am Netz sich abspielenden Vorgänge, das von der Flüssigkeit des Gefäßes umgeben ist, für die Zeit des Versuches — etwa 1 bis 2 Std. lang — beobachten. Der Vorzug dieser Versuchsanordnung vor der ursprünglichen, bei der das Netz in ein an der Seite des Tieres befestigtes Gefäß gebracht wurde, ist die sichere Befestigung des Glases, der Hauptvorteil aber, daß die Flüssigkeit ungefähr die gleiche Temperatur wie das Blut des Versuchstieres hat, wodurch die Versuchsbedingungen gegen die früheren bedeutend verbessert werden.

Beläßt man das Netz nun etwa 1—1½ Std. in einer in das Gefäß gebrachten 24-stünd. Pferdeserum-Bouillonkultur eines *Streptococcus longus* von natürlicher Virulenz, so ist das wichtigste Phänomen, das zunächst zu beobachten ist, die Absonderung eines Exsudates, das leicht gerinnt, sehr eiweißreich ist, daher aus den Gefäßen stammt, also kein Transsudat ist. Am Schluß des Versuches hat sich der Gefäßinhalt in eine zarte Gallerte verwandelt.

Die Menge des Exsudates kann durch Messungen der nach Beendigung des Versuches vorhandenen Gefäßflüssigkeit festgestellt werden. Oft ist die Exsudatmenge beträchtlich, es hat zuweilen eine Vermehrung um das 1½-fache stattgefunden. Die Peritonealflüssigkeit ist dagegen während des Versuches dieselbe geblieben. Die Zahl der Phagozyten im Glase ist dagegen sehr gering. Im hängenden Tropfen sieht man ein bis drei Leukozyten im Gesichtsfelde, während normalerweise die Peritonealflüssigkeit etwa 4—6 Leukozyten und keine Blutkörperchen enthält. Die Zahl der Leukozyten scheint also im Beginn einer peritonealen Infektion eher vermindert zu sein. Am Schluß des Versuches folgt die Resektion des Netzes, exakte Ausbreitung auf einer Glasplatte, Fixierung in Formalin. Nach der Härtung lassen sich beliebige Teile aus dem Netz ausschneiden und wie Schnittpräparate behandeln.

Von Veränderungen am frisch resezierten Netz sind schon makroskopisch wahrzunehmen: Hyperämie, Auflockerung und ödematöse Durchtränkung des Gewebes, ferner feinste Hämorrhagien, die wohl als eine Folge der bakteriellen Toxinwirkung aufzufassen sind; denn bei Versuchen mit Ringerscher Flüssigkeit waren sie nicht festzustellen. Mikroskopisch sind die stärksten Veränderungen an den Gefäßen anzutreffen. Es besteht eine starke Erweiterung aller Gefäße, die mit polynukleären Leukozyten erfüllt sind. Sie sind so zahlreich, daß der normale Blutstrom eines Netzgefäßes scheinbar unterbrochen erscheint; an manchen Gefäßen haben sich förmliche Leukozytenwälle gebildet, auch viele einzelne Leukozyten sind über das Gewebe des Netzes regellos verstreut anzutreffen. Die Leukozyten des Peritonealexsudates stammen also zum größten Teil aus den Gefäßen des Netzes, dieses ist also als der eigentliche Leukozytenspender anzusehen und sehr wahrscheinlich auch als Lieferant des größten Teiles des Exsudates beim Beginn einer Peritonitis. Für diese Zwecke ist es durch seinen anatomischen Bau und die eigenartige Gefäßanordnung, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, ganz besonders geeignet.

Besondere Beachtung verdienen die aus Streptokokken bestehenden



**Bakterienansammlungen im Netz.** Sie haben meist eine bestimmte Anordnung, sehen wie richtige Bakterienzüge aus und liegen in Kapillaren mit dünner Wandung und verschieden breitem Lumen. Der wechselnde Durchmesser, Ausbuchtungen und Ausstülpungen, die einfache Endothellage der Wandungen der meisten Kapillaren charakterisieren diese Gefäße als Lymphgefäße. Die größeren verlaufen meist im Verlauf der größeren Blutgefäße, manchmal sieht es so aus, als wenn die Lymphbahnen Blutgefäße umgeben oder über sie hinwegziehen. Das Vorhandensein eines Lymphgefäßsystems im Netze kann nach diesen Bildern nicht mehr bezweifelt werden, wie dies noch immer, und zwar in den neuesten Arbeiten geschieht.

Im Lumen einzelner Lymphgefäße trifft man die Streptokokken meist in großer Zahl. Zuweilen füllen sie es gänzlich aus, so daß man den Eindruck einer Bakterienembolie hat. Außer Bakterien finden sich im Lumen Leukozyten, meist polynukleäre, ferner rote Blutkörperchen, oft so zahlreich, daß die Lymphkapillare den Eindruck eines Blutgefäßes macht.

Die nächstliegende Erklärung auf die Frage, wie die roten Blutkörperchen in die Lymphgefäße geraten, ist wohl die, daß sie aus den Blutgefäßen in die Streptokokkenflüssigkeit des Gefäßes übergetreten und von hier durch die Lymphgefäße zugleich mit den Streptokokken resorbiert worden sind. Auf gleiche Weise würden dann auch die Leukozyten in die Lymphgefäße resorbiert worden sein. Dieser Annahme widerspricht aber, daß die Zahl der Leukozyten des Peritonealexsudates in den ersten Stunden eine sehr spärliche ist, während die Zahl der roten und weißen Blutkörperchen in den Lymphkapillaren zuweilen außerordentlich groß ist. Wir müssen demnach annehmen, daß die Vorgänge des Austritts dieser Zellen aus den Blutgefäßen und des Eintritts in die Lymphgefäße mit großer Schnelligkeit geschehen, oder daß möglicherweise eine direkte Ueberwanderung der Leukozyten und Blutkörperchen innerhalb des Gewebes des Netzes in die Lymphgefäße stattfindet.

Was das Verhältnis der Kokken zu den Leukozyten in den Lymphkapillaren anbetrifft, so herrscht fast überall eine energische Phagozytose. Es ist beachtenswert, daß diese erst innerhalb des Lumens der Lymphkapillaren stattfindet, nachdem die Kokken hierher ohne Vermittlung der Phagozyten gelangt sind. Es handelt sich also hier um eine direkte Resorption, zum Unterschiede von der indirekten, die durch Vermittlung der Phagozyten zustande kommt.

An der Aufnahme der Streptokokken durch das Netz beteiligen sich ferner in hervorragender Weise die Zellen der *Tâches laiteuses*. Die Zahl der Kokken, die man hier antreffen kann, ist oft so bedeutend, daß bei einer Gram-Kontrastfärbung der ganze Bezirk des Milchflecks blau-schwarz gefärbt erscheint; ich nehme an, daß die Kokken möglicherweise durch feinste Lymphkapillaren den hier vorkommenden Zellen zugeführt werden.

Als phagozytäre Elemente des Netzes betätigen sich endlich auch die Endothelzellen, die das Netz überziehen. Man kann Bezirke treffen, wo zahlreiche Endothelzellen in ihrem Innern Kokken beherbergen. Auch die Endothelien der Lymphgefäße sind energische Phagozyten.

Bei einer peritonealen Streptokokkeninfektion und, wie es scheint, bei jeder anderen bakteriellen Infektion der Bauchhöhle kommt es also

zunächst zum Austritt eines eiweißreichen, leicht gerinnbaren Exsudates gleichzeitig mit roten Blutkörperchen aus den Blutgefäßen des Netzes, weiter zur Ansammlung von Leukozyten in den Blutgefäßen und beginnendem Uebertritt durch die Gefäßwandungen, teils in das Gewebe des Netzes, teils in die Exsudatflüssigkeit.

Der zweite zu beobachtende Vorgang ist die Resorption der injizierten Flüssigkeit und der in ihr enthaltenen Streptokokken durch die Lymphgefäße des Netzes, die Ablagerung der Streptokokken in den Zellen der Milchflecke und denen der Lymphknötchen, überhaupt überall dort, wo Lymphgewebe oder Lymphzellen vorhanden sind. Gleichzeitig ist während der Resorption das Vorhandensein von Leukozyten und roten Blutkörperchen innerhalb des Lumens der Lymphgefäße festzustellen. Hierselbst findet dann eine energische Phagozytose der pathogenen Keime statt, an der sich die Endothelien der Lymphkapillaren beteiligen.

Generell darf man behaupten, daß an dem Vorgange der Exsudation von Zellen und Serum die Blut-, an dem Vorgang der Resorption die Lymphgefäße und das gesamte lymphoide Gewebe, die Leukozyten und die Endothelien des Netzes ausschlaggebend beteiligt sind.

Ist die Exsudation oder die Resorption das Primäre? Scheinbar die Exsudation, da wir meist eine bedeutende Vermehrung der Flüssigkeit im Glase sehen, während eine Abnahme der Flüssigkeit durch die Resorption nur in einigen Fällen zu beobachten war. Die Größe der Exsudation scheint der Größe des Reizes gleich zu sein, der das Netz trifft. So überwog in einigen Versuchen mit Ringerscher Flüssigkeit die Resorption die Exsudation. Darüber kann jedoch kein Zweifel bestehen, daß in den ersten Stunden beide Vorgänge gleichzeitig stattfinden, daß sie nebeneinander herlaufen; denn wir sehen an dem resezierten Netze einerseits das Oedem, den Austritt von Phagozyten und roten Blutkörperchen, andererseits aber auch mit Kokken, Phagozyten und Erythrozyten angefüllte Lymphkapillaren.

In bezug auf die Schnelligkeit der Resorption ist zu sagen, daß sie eine bedeutende ist, und daß wahrscheinlich schon nach einer Viertelstunde die größte Zahl der pathogenen Keime von den Lymphbahnen des Netzes aufgenommen ist; ferner, daß die Allgemeininfektion des Organismus infolge der Resorption durch das Netz ebenfalls in verhältnismäßig kurzer Zeit eintritt; denn bereits nach 45–60 Min. ist ein Auftreten von Streptokokken im zirkulierenden Blute festzustellen. Dieser Nachweis wurde in der Weise geführt, daß während der Versuchsdauer die Carotis freigelegt und in Abständen von 15 Min. dem Gefäß Blut entnommen und in geeignete Nährböden gebracht wurde.

Die gewaltige Zahl der in einzelnen Lymphkapillaren anzutreffenden Streptokokken, die Kettenbildung im Lumen, läßt darauf schließen, daß beim Kettencoccus in den ersten Stunden bereits eine Vermehrung stattfindet. (Bei anderen Infektionen scheint das nicht der Fall zu sein.) Hierzu mag beitragen, daß die Lymphbahnen überhaupt dasjenige Gewebe sind, in dem sich der *Streptococcus longus* mit Vorliebe ansiedelt, und in dem er am besten gedeiht. Er ist als der eigentliche Parasit der Lymphspalten und Lymphbahnen anzusehen.

Die Folgen der experimentellen Netzinfection mit Streptokokken waren fast immer die gleichen. Nach der Resektion des Netzes haben wir das Peritoneum und die Bauchhöhle durch Naht sorgfältig geschlossen und die Tiere sich selbst überlassen. Mit vereinzelt Ausnahmen trat der Tod der Tiere an einer allgemeinen Streptokokkensepsis ein; im Herzblut und den verschiedenen Organen der verendeten Tiere waren die spezifischen Keime nachweisbar.

Der Verlauf gleicher Versuche mit anderen pathogenen Bakterien, Staphylo-, Pneumococcen, *Bacterium coli*, Milzbrand- und Tuberkelbazillen war verschieden. Die Vorgänge der Exsudation und Resorption waren allerdings ungefähr die gleichen, wie bei der Streptokokkeninfektion. Beim *Staphylococcus* jedoch waren während der Dauer des Versuches die Kokken im peripheren Blute niemals nachweisbar. Von den Tieren starb nur die Hälfte.

Bei den 5 Pneumokokkenversuchen waren dagegen die Kokken viermal schon nach 1 Std. im peripheren Blute vorhanden. Alle Tiere starben. Der pathologisch-anatomische Befund war bei allen Tieren der gleiche: Peritonitis fibrinosa purulenta, Pleuritis, Pericarditis fibrinosa, Mediastinitis anterior, parenchymatöse Trübung von Leber, Niere usw.

Die Versuche mit Colibazillen unterschieden sich von den anderen dadurch, daß die Tiere sämtlich die Infektion überstanden, obschon es in allen Fällen zu einer Bakteriämie des Blutes während der Versuchsdauer gekommen war.

Bei einer experimentellen Infektion der geschlossenen Bauchhöhle mit Tuberkelbazillen lagern sich die Bazillen fast ausschließlich im Netz ab, das nach wenigen Tagen zusammengerollt an der unteren Magengrenze liegt und von dem dann die weitere Infektion des Organismus ihren Ausgang nimmt.

Das Bild, das wir uns von dem Ablauf der peritonealen Infektion bisher gemacht haben, bedarf in mancher Hinsicht einer Abänderung. Dabei mögen zunächst die prinzipiellen Fragen, inwieweit die Immunsubstanzen des Serums oder zelluläre Vorgänge, bei der Vernichtung der pathogenen Keime mitwirken, außer Betracht bleiben. Diese Probleme sind komplizierter, als wir bisher angenommen haben. Man darf da nicht schematisieren; Ort und Gewebe, wo der Kampf stattfindet, ihre anatomischen und physiologischen Verhältnisse, ihre spezifische Tätigkeit müssen dabei mehr berücksichtigt werden.

Was die Peritonealhöhle anbelangt, so läßt sich darüber Folgendes sagen: Nicht die freie Bauchhöhle ist der Ort, wo der Streit zwischen pathogenen Keimen und den Abwehrkräften des Organismus ausgetragen wird, sondern der lymphoide Apparat des Netzes ist die Stätte des Kampfes. Außerdem ist das Netz als der eigentliche Spender sowohl des serösen als auch des zelligen Exsudates anzusehen; als ein flächenhaft ausgebreiteter Lymphknoten leistet er dieselben Dienste wie eine Lymphdrüse. Ohne Zweifel findet der größte Teil der von ihm aufgenommenen Keime durch zelluläre Kräfte hier seinen Untergang. Die Phagozytose in der Bauchhöhle, deren allmähliches Anschwellen wir von Stunde zu Stunde nach erfolgter Infektion verfolgen können, ist nur eine Teilerscheinung und ein ziemlich untergeordneter Vorgang eines weit umfangreicheren und wichtigeren, der im Gewebe des Netzes vor sich geht. Die eigentliche Bauchhöhle ist im Beginn der Infektion gewissermaßen nur ein Nebenkriegsschauplatz. Daß die hervorragende Tätigkeit des Omentum maius bisher kaum erkannt und in seiner Bedeutung

für das Immunitätsproblem nicht gewürdigt werden konnte, liegt an der unzureichenden Versuchstechnik, der Entnahme und Untersuchung der Peritonealflüssigkeit mittels Kapillaren, ein Verfahren, das uns nur einen verhältnismäßig kleinen Ausschnitt des Gesamtvorganges überblicken ließ. Von der spezifischen Leistung einzelner Teile der Serosa gibt sie überhaupt keinen Aufschluß.

Die Folgerungen, die aus diesen Feststellungen für die praktische Medizin zu ziehen sind, sollen an einer anderen Stelle erörtert werden. Vgl. auch Jos. Koch, Bemerkungen zu der Arbeit Sanarellis „De la Pathogénie du Choléra (Premier Mémoire). La défense naturelle du péritoine contre les vibrions“. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 91. Heft 1. S. 195.)

#### Diskussion.

Kruse bestätigt auf Grund eigener, vor mehr als 10 Jahren ausgeführter Untersuchungen die große Bedeutung des Netzes, sieht sie allerdings mehr in der entzündlichen und phagozytären Reaktion als in der Resorption.

Pust (Jena, a. G.) berichtet über 200 Tierversuche, welche er bisher über die Exsudations- und Resorptionsverhältnisse des Peritoneums gemacht hat. Es ergab sich bei Prüfung der Exsudation eine Gesetzmäßigkeit gegenüber starken Kochsalzlösungen bezüglich Zeit und Menge, welche ungefähr analog ist der von Friedrich mit Glycerin erzielten. Durch Serienversuche konnte eine Kurve festgestellt werden, in welcher die höchste Exsudation in der ersten Stunde nach der Injektion besteht. Die Kurve fällt dann langsam ab. Nach etwa 4 Stunden ist das Exsudat verschwunden.

Beim Studium der Resorption mit Bakterien, Methylenblau, Carbo animalis usw. bestätigten sich die Ergebnisse von Koch: Wenn sich auch an der Unterfläche des Diaphragma eine stets sich gleichbleibende Figur ergab, welche den durchscheinenden, vollgestopften Lymphgefäßen entsprach, so wurde doch stets der Eindruck erweckt, daß die Hauptresorption durch das Netz erfolgte, da große Partien desselben mit den injizierten Stoffen angefüllt erschienen.

Die Arbeit ist noch nicht abgeschlossen. Sie hat praktisch-therapeutische Bestimmung und soll an anderer Stelle vorgetragen werden.

Rosenthal (Göttingen) weist auf seinen späteren Vortrag hin, in dem Beobachtungen mitgeteilt werden würden, die das weitere Schicksal der vom Netz aufgesogenen Bakterien beleuchten.

### 13. Vortrag. Czaplewski:

#### Zur Bakteriologie der Ruhr.

Meine sehr geehrten Damen und Herren! In Nr. 43 der Deutsch. med. Wochenschr. 1917 habe ich in einer Arbeit „Ueber Ruhr“ über bakteriologische Untersuchungen von Ruhrfällen berichtet, bei welchen ich statt Amöben und Ruhrbazillen in großer Menge ein Kapselbakterium vom Typus des *B. lactis aërogenes* nachweisen konnte. Während früher die Ruhr in Cöln gar keine Rolle spielte, ist das seit 1916 anders geworden. Nach amtlichen Angaben wurden aus Cöln gemeldet an Ruhrfällen:

				Mortalität:
1916	54	Erkrankungen mit	10	†
1917	3075	„	373	† (11,15 Proz.)
1918	1142	„	132	† (11,56 Proz.)
1919	596	„	61	† (10,23 Proz.)
1920 bis jetzt)	286	„	25	†

Es ist aber unzweifelhaft, daß die wirkliche Ausbreitung der Epidemie infolge zahlreicher nicht gemeldeter leichter Fälle eine viel größere war. Da hauptsächlich die schweren Fälle in die Krankenhäuser eingeliefert wurden, war die Mortalität in diesen eine größere. Geheimrat Moritz gab in der Sitzung des Allgem. Aerztl. Vereins am 15. Okt. 1917 die Mortalität seiner Ruhrfälle in der Städt. Krankenanstalt Lindenburg zu 13 Proz. an. Daß es sich um schwere echte Ruhr handelt, wurde einmütig von allen Klinikern und Pathologen nach dem ganzen klinischen Verlauf und den typischen hochgradigen pathologisch-anatomischen Befunden betont. Im auffälligsten Gegensatz hierzu stand der im wesentlichen negative bakteriologische Befund. Ruhramöben wurden überhaupt nicht, Ruhrbazillen (Hygien. Institut) nur in ca. 10 Proz. trotz aller Vorsichtsmaßregeln gefunden (62 von 630 sicheren Ruhrfällen der Lindenburg). Nach einer mündlichen Mitteilung des Mitberichterstatters Prosektor Dr. A. Frank stellte sich das Gesamtergebnis später noch ungünstiger, insofern von 7—800 Fällen, die Geheimrat Moritz bei der Epidemie 1917 zu beobachten Gelegenheit hatte, nur 7—8 Proz. positiven Bazillenbefund ergaben. Bei den gefundenen „Ruhrbazillen“ handelte es sich aber auch nicht etwa um eine Art, sondern es fanden sich teils Shiga-Kruse-, teils Flexner-, Y. Strong- und andere „Ruhrbazillen“.

Dagegen gelang mir, und zwar bei Untersuchung direkt vom Kranken (Innere Klinik, Geheimrat Moritz), aus frischen unbehandelten Ruhrfällen, vielfach aber auch von älteren chronisch gewordenen behandelten Fällen und aus eingesandtem Material von Ruhrfällen unschwer der Nachweis von Kapselbazillen vom Typus des *B. lactis aërogenes*, die ich vorläufig als *Bacillus δ* bezeichnete. Bezüglich des Details muß ich bei der Kürze der Zeit auf die obige Arbeit verweisen. Heute möchte ich mir erlauben, Ihnen an der Hand von Diapositiven und mikroskopischen Präparaten eine kurze Uebersicht über meine früheren Befunde und neuere Feststellungen zu geben.

Ausgangspunkt für meine Untersuchungen hatte die Beobachtung gebildet, daß auf den Stuhlplatten im Kölner Bakteriologischen Laboratorium bei Enteritiden im Hochsommer und Herbst zum Teil zahlreiche säurebildende Kapselbazillen (von den Assistenten fast regelmäßig mit *Coli* verwechselt) fanden, um im Winter gegen das Frühjahr hin wieder zu verschwinden. Ich wünschte ihr Auftreten und ihre etwaigen Beziehungen zur Ruhr weiter zu verfolgen und habe dann namentlich durch Herrn Prosektor Dr. Frank und Geheimrat Moritz Ruhrmaterial zur Untersuchung in reichem Maße erhalten.

Die fraglichen zum Teil sehr stark schleimbildenden säurebildenden Kapselbazillen fanden sich nun in allen frischen, meist aber auch in älteren Ruhrfällen, und zwar in allen Jahren von 1916 ab bis 1920.

Zum Beweise mögen Ihnen die 8 folgenden Diapositive von Stuhlplatten (meist auf Lackmusmilchzuckeragar) aus den einzelnen Jahrgängen dienen. Sie zeigen Ihnen zugleich, wie reichlich die Kapselbazillen auf den mit gewaschenen Stuhlflocken beimpften Platten gewachsen sind.

Ein Beispiel dafür gibt bereits Nr. 1 Fall Rabisch 1916. Nr. 2 zeigt Ihnen ein Bild einer 3-tägigen Platte mit sekundären Strichimpfungen und verschieden starker Verschleimung der einzelnen Striche (Fall Doerner 1916). Diese Verschleimung wird bei längerem Stehen oft außerordentlich hochgradig, so daß die verschleimte Masse

beim Umkehren der Platte abtropft. Hierfür als Beispiel Nr. 3 (Marg' Weingarten 1918).

Nr. 4 zeigt Ihnen die Kapselbazillen fast in Reinkultur auf der Originalplatte aus dem Darminhalt von Soldat Mühlmann 1919 (bei der Sektion entnommen).

Beim Auswachsen der Abimpfungen beim Stehen erweisen sich diese mitunter nicht als rein. Nr. 5 zeigt Ihnen solche unreinen sekundären Strichkulturen mit gebänderten Einsprengungen. Man muß sich hier bei Abimpfungen zur Gewinnung von Reinkulturen natürlich sehr in Acht nehmen. Besonders unangenehm und lästig ist die Verunreinigung und Mischinfektion mit *Proteus*, welche besonders bei übelriechenden „fauligen“ Ruhrstühlen beobachtet wird. Solche Fälle pflegen klinisch besonders schwer zu verlaufen.

Ein Beispiel für eine solche *Proteus*-Mischinfektion ist Nr. 6 Magdalene Burkart 1917, Abimpfung aus gewaschener blutiger Schleimflocke.

Hier sieht man an einer Stelle den *Proteus* als zarten Hauch aus der Abimpfung herauswuchern. Da der *Proteus* mit seiner ungeheuren Wachstumsfreudigkeit schnell die ganze Platte überwuchert, ist in einem solchen Falle die Reinzüchtung des Kapselbazillus oft sehr schwer. Ich habe auf 2 Wegen Erfolg gehabt. Erstens mit Abimpfung auf neue Lackmusmilchzuckeragarplatten mit verdünntem Material und Stehenlassen bei Zimmertemperatur unter fortgesetzter Beobachtung und eventuell mit Wiederholung. Zweitens mit Abimpfung auf Kartoffeln und Stehenlassen, wobei die Kapselbazillen sich sehr gut, der *Proteus* schlecht vermehrt. Auch dies Verfahren muß eventuell wiederholt werden.

Daß die Kapselbazillen nicht nur in Kölner Ruhrfällen, sondern auch anderswo vorkommen, beweisen Ihnen Nr. 7 und 8. Von diesen stammt Nr. 7 von einem Ruhrfall aus Gelsenkirchen 1917, den ich Herrn Dr. Quadflieg verdanke, Nr. 8 von einer Spezialplatte aus Ruhr 1920 Opladen. Das Material verdanke ich der Güte von Herrn Dr. Le Blanc, Opladen. Da es, während ich verreist war, ankam, hatte Herr Prosektor Dr. Frank die Freundlichkeit, es für mich auszustreichen und die gewachsene Platte im Eisschrank aufzuheben. Dadurch bin ich in der glücklichen Lage, Ihnen heute die noch wohlerhaltene charakteristische Platte und eine sekundäre Abimpfung auf Lackmusmilchzuckeragarplatte herumgeben zu können.

Die auf den Lackmusmilchzuckeragarstuhlplatten gewachsenen säurebildenden Kapselbazillen erwiesen sich als zur Gruppe des *Lactis aërogenes* gehörig.

Nr. 9 zeigt Ihnen eine Reinkultur auf Kartoffel. Der Nachweis, daß es sich um echte Kapselbildung handelt, gelang auch für Kulturen in glänzender Weise mit der von mir modifizierten Bonischen negativen Kapseldarstellungsmethode (Beschreibung siehe obige Arbeit).

Ein Bild der Kapseln gibt Ihnen Nr. 10 aus Fall Mery 1916.

(Diese Methode habe ich schon seit 1907 in Benutzung. Ein aufgestelltes Kapselpräparat gefärbt mit dem sonst schnell verbleichenden Karbolgentiana hat sich infolge der Chromsäurebeizung bis jetzt wie frisch erhalten.)

Ich kam nun auf die Idee, diese Methode auch zum Nachweis der Kapselbazillen direkt in den gewaschenen Schleimflocken zu benutzen. Dies gelang über Erwarten gut, wie Ihnen Nr. 11—13 beweisen, welche

die Kapselbazillen deutlich, zum Teil zahlreich schon in den gefärbten gewaschenen blutigen Schleimflocken des Ruhrstuhles zeigen.

In Nr. 14 und 15 liegen dabei die Kapselbazillen auch in Phagozyten. Nr. 14 beweist dabei die Ueberlegenheit der neuen Methode über die alte Ribbertsche Kapselfärbung (Nr. 15) bei Präparaten aus derselben Schleimflocke.

Mit einer neuen, noch nicht veröffentlichten Methode gelang mir dann, während die besten anderen Methoden fast vollkommen im Stich ließen, mühelos der isolierte Nachweis der Kapselbakterien auch in Ruhrschnitten (Nr. 16–19). Die Bakterien dringen von der Schleimhautoberfläche oft in dichten Massen in die Tiefe vor. (Dadurch wird verständlich, daß bei einer solchen Durchwanderung der von oben aus nekrotisch werdenden Schleimhaut ein Abführmittel zur Reinigung des Darms vollkommen unwirksam sein muß.) Nr. 19 zeigt auch Phagozyten mit Kapselbazillen aus der Tiefe eines Darmschnittes. Daß es sich in dem Schnittmaterial um Kapselbazillen handelt, wurde erwiesen durch ihren mikroskopischen Nachweis in gewaschenen Schleimhautfetzen (Nr. 20 und 21, Josephine Gaengens 1917) und die daraus gewonnenen Kulturen.

Auch bei der Kinderruhr hatte ich die Kapselbazillen nachweisen können, wie Nr. 22–25 beweisen. Dieselben zeigen die Kapselbazillen sehr reichlich im Ausstrich der blutigen Schleimflocken zum Teil kolonieartig auswachsend. Nr. 26 gibt dazu eine Stelle aus einem Schnitt von einem Ruhrkinderdarm wieder (Enteritis necroticans gefärbt in einem Schnitt von Prosektor Dr. Frank).

Inzwischen ist mir auch die Züchtung der fraglichen Kapselbazillen aus dem Blut, und zwar bei einer Ruhrleiche (Nr. 27 Originalplatte Zech) und sogar aus dem Blut eines fiebernden Ruhrfalles während des Lebens gelungen<sup>1)</sup>.

Nach allem, was ich bis jetzt gesehen habe, sind die von mir beschriebenen Kapselbazillen 1) kein gewöhnlicher Befund normaler Stühle. Sie sind aber 2) bis jetzt auch nicht als gewöhnlicher Befund von Ruhrstühlen beschrieben. Hier sind sie meines Wissens überhaupt nicht erwähnt. Entweder kamen sie darin überhaupt nicht vor oder man hielt sie für einen gleichgültigen Befund wie *B. coli* (das aber oft ausdrücklich erwähnt wird), oder sie werden (wie das leicht geschehen kann) mit *B. coli* verwechselt und übersehen. Ich glaube mehr das Letztere. Erst nach meiner Veröffentlichung kommen von verschiedenen Seiten Bestätigungen über ihr, dazu zahlreiches, Vorkommen bei Ruhr<sup>2)</sup>.

Auf Grund meiner Untersuchungen war ich (cf. obige Arbeit) zu der Anschauung gekommen, daß es sich bei der Cölner Ruhrepidemie um eine besondere Enteritis-Form (cf. auch Geheimrat Moritz u. a.) handelte, neben der aber auch Shiga-Kruse und Flexner-Infektionen etc. sich ergeben. Diese Kapselbazillenenteritis scheint aber viel weiter verbreitet zu sein, als ich zuerst angenommen hatte.

Diese säurebildenden Kapselbazillen sind aber durchaus keine harmlosen Saprophyten, sondern zum Teil hochpathogen für Mensch und Tiere. Beim Menschen finden sie sich

1) Hierzu gehören offenbar auch die früher beschriebenen Infektionen mit dem sogenannten *Proteus capsulatus hominis*.

2) Weltmann, Oskar, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 1. — Mayer, Arthur, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 88. Heft 1 u. 2.

- 1) häufig bei Sommer- und Herbstenteritiden, die zum Teil blutig (also dann wohl als Ruhr anzusprechen!) sind;
- 2) bei Enteritis und Brechdurchfall der Kinder;
- 3) bei der Kinderruhr<sup>1)</sup>;
- 4) wurden sie von mir in überwältigender Menge gefunden bei den Cölner Ruhrfällen 1916, 1917, 1918, 1919, 1920 verschiedenster Herde, ferner
- 5) bei Ruhrfällen von Brühl, Gelsenkirchen, jetzt 1920 Opladen;
- 6) bei sonstigen menschlichen Infektionen (Bronchitis, Pneumonie, Pleuritis, Peritonitis, Angina fibrinosa, Otitis, Meningitis, Cystitis, Urethritis, Pyelitis, Pyelonephritis, im Urin, bei sonstigen Eiterungen und Allgemeininfektionen (*Proteus capsulatus hominis*)<sup>2)</sup>).

Bei Tieren wurden sie beschrieben als Erreger von 1) Kälber-ruhrformen (Aërogenesbazillose von C. O. Jensen); 2) von Mastitis bei Kühen (C. O. Jensen), daher auch 3) in Kuhmilch und Magermilch. (Dieser Befund erklärt die Verbreitung der Kälberruhr und die Entstehung von Enteritiden von mit Kuhmilch ernährten Säuglingen und Kindern); 4) bei Schweinen (Repetitor Lange-Hannover) (vielleicht nach Fütterung mit infizierter Magermilch); 5) bei Hunden (Lange). Auch in der Außenwelt sind sie weit verbreitet. In unreiner Milch (siehe oben) sind sie häufig (z. B. Berlin) als gelegentliche Erreger von Milchsäuregärung (*B. acidilactici* Hüppe). Sie sind ferner zum Teil reichlich gefunden in Erde und Wasser, gelegentlich auch in Fischmehl (Prof. Mießner-Hannover und Repetitor Lange<sup>3)</sup>). Sie können damit also in den Körper gelangen und namentlich bei reichlichem Vorhandensein von gärfähigem Material (besonders gefährlich unreifes Obst!) ihre verderbliche Tätigkeit entfalten.

Dafür, daß ihnen bei den Kölner Ruhrfällen eine ätiologische Bedeutung zukam, scheinen mir folgende Tatsachen zu sprechen:

- 1) daß sie aus den frischen Ruhrstühlen, und zwar in den gewaschenen blutigen Schleimflocken nicht nur konstant kulturell, sondern mit der neuen modifizierten Boni-Czaplewski-Methode auch bereits mikroskopisch nachweisbar sind;
- 2) daß ihr Nachweis seltener auch aus dem Urin von Ruhrkranken, aus dem Herzblut von einer Ruhrleiche und sogar aus dem strömenden Blut bei einem Ruhrfall mit Fieber gelang;
- 3) daß sie auch im Schnitt in Ruhrdärmen (mit Kapsel) und
- 4) sowohl im Ausstrich als im Schnitt auch in Phagozyten liegend nachgewiesen werden konnten.

Diese Annahme wird unterstützt auch durch die kulturellen Eigenschaften:

- 1) Diese Kapselbazillen wachsen ungemein schnell und üppig. Sie bilden dabei
- 2) stark Schleim, namentlich wenn genügend Pepton und Zucker vorhanden ist, und zwar besonders gut bei Zimmertemperatur, in einigen

1) cf. auch Baginsky, Deutsch. med. Wochenschr. 1888. Nr. 20/21.

2) Anmerkung bei der Korrektur: 7) bei Amyloidose cf. A. Frank „Die amyloide Degeneration als der Ausdruck einer primären oder sekundären Infektion mit Kapselbazillen (Gruppe Friedländer“) (München. med. Wochenschr. 1916. Nr. 15) und „Die Genese des Amyloids“. (Zieglers Beitr. Bd. 67. 1920. S. 181—206.)

3) Mießner u. Lange, Ein pathogenes Bakterium im Fischmehl. (Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 21. Jahrg. 1913. Nr. 47. S. 745.)



Tagen über  $\frac{1}{2}$  cm dick, abtropfend. Die Schleimstühle bei Ruhr sind zum Teil wohl hierdurch mit zu erklären. Sie sind

3) stark säurebildend. (Die aus Milchzucker gebildete Milchsäure reizt den Darm und wirkt stark abführend.) Sie sind

4) stark gasbildend. (Das sehr reichlich und schnell gebildete Gas treibt den Darm auf, bewirkt Meteorismus, macht Blähungen und Winde und verursacht durch seine treibende Kraft mit den starken, mitunter ungemein heftigen, nicht zu bezwingenden Stuhldrang: Tenesmen.) Ferner sind sie

5) für Tiere (namentlich Mäuse, Meerschweinchen, weniger Kaninchen) hochgradig pathogen und erzeugen sk., ip. und iv. Enteritis mit schleimig-blutigen Durchfällen, Hyperämie und Ecchymosen, eventuell Septikämie und Exitus, bei geringen Dosen aber chronische Infektion und Intoxikation mit Abmagerung (Denys und Brion). Sie sind auch

6) für diese kleineren Versuchstiere abgetötet und als Toxin hochgradig toxisch (Denys und Brion). Bei großen Dosen wirken sie schnell tödlich; bei kleineren Dosen verursachen sie eine chronische Intoxikation, Marasmus, Krämpfe, Exitus.

Namentlich scheint mir aber für die ätiologische Bedeutung der gefundenen Kapselbazillen für gewisse Ruhrformen zu sprechen, daß sie überall, sowohl in den Ausscheidungen als auch im Leichenmaterial (Darminhalt, Schnitte usw.) in einer der Schwere des klinischen Befundes und dem Entwicklungsstadium des pathologisch-anatomischen Prozesses entsprechenden Menge nachweisbar sind und mit der Abheilung abnehmen und verschwinden.

### Schlüsse:

Bei den Kölner Ruhrfällen handelt es sich um eine anscheinend weitverbreitete Kapselbazillenenteritis. Die gefundenen säurebildenden Kapselbazillen gehören zum Typus des *B. lactis aërogenes*, welcher ein richtiger Kapselbazillus ist. Er ist kein gewöhnlicher Befund und kein Saprophyt, vielmehr zum Teil hochpathogen und toxisch.

Er kann als Erreger von Enteritiden auftreten. Dieselben können blutig werden und dadurch als Ruhr imponieren. Ich mache den *B. lactis aërogenes* ferner auch wenigstens für einen Teil der Fälle von Kinderruhr verantwortlich und glaube, daß er einen Teil der Fälle von Brechdurchfall der Säuglinge und (durch seine Toxine) von Säuglingsatrophie verursacht.

Die neue Methode der Kapseldarstellung nach Boni-Czaplewski mit Chromierung gibt sehr beweisende schöne und dauerhafte Präparate<sup>1)</sup> und ist daher ebenso wie die neue klare Schnittfärbung zur Darstellung zu empfehlen.

### Diskussion.

Kruse hält die zahlreichen, von vielen als Erreger der Ruhr angesehenen Bakterien höchstens für Begleiter der Ruhr. Wenn man unter günstigen Umständen Ruhrstühle untersucht, findet man entweder Dysenterie- oder Pseudodysenteriebazillen, wenn man die Stühle nicht frisch oder nicht von frischen Fällen oder Leichen untersucht,

1) Die Methode ist inzwischen von Repetitor Lange „Ueber die Bedeutung und den Nachweis von Kapselbazillen (Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 26. Jahrg. 1918 Nr. 5) nachgeprüft, welcher meine Angaben voll bestätigt und die Methode gleich mir namentlich zur Unterscheidung der Kapselbazillen von *Coli* empfiehlt.

kann man sie vermissen. Niemals soll man die Diagnose der Ruhrbazillen von der positiven oder negativen Agglutination irgendwelcher Seren allein abhängig machen. Es gibt sicher inagglutinable Ruhrbazillen. Die zahlreichen Fehlbefunde in der Kriegszeit erklären sich aus den mangelhaften Bedingungen, unter denen die Untersuchungen vorgenommen wurden.

Petruschky.

Plasaj (Agram, a. G.): Man muß unterscheiden zwischen Kapseln und Retraktionshöfen. An den projizierten Mikrophotogrammen habe ich keine Kapseln gesehen. Nur ein lichter, ganz farbloser Hof ist um die Bakterienkörper sichtbar, der mit keinem stärker gefärbten Saum begrenzt ist. Ich meine, es handelt sich hier um die Retraktionshöfe, die nichts Materielles sind.

Kolle: Durch die vielen Veröffentlichungen, die namentlich der Krieg über das Ruhrproblem gebracht hat, ist die Frage der Ruhrätiologie meines Erachtens nicht nur nicht gefördert, sondern weiter kompliziert worden. Ich erachte namentlich aus folgenden Gründen die Ätiologie der Ruhr für keineswegs endgültig geklärt. Es sind zahlreiche in ihren biologischen Eigenschaften, namentlich was die Giftbildung betrifft, und auch bezüglich ihres kulturellen Verhaltens verschiedenartige Bakterien bei Ruhr gefunden worden.

Es ist nach unseren bisherigen Auffassungen über die ätiologische Bedeutung von Bakterien bei einer Infektionskrankheit nicht angängig, sie sämtlich als Ruhrerreger zu betrachten. Damit ergibt sich die Notwendigkeit, zu zweifeln, ob alle die verschiedenen bei Ruhr gefundenen Bakterien wirklich als krankmachende oder nur als Begleitbakterien oder vielleicht Sekundärbakterien in Ruhrfäzes und im Ruhrdarm anzusehen sind. Das Problem ist noch weiter dadurch kompliziert worden, daß es zahlreiche Ruhrfälle, ja ganz große Ruhrepidemien gibt, bei denen die bisher bekannten Bakterien vom Typus Shiga-Kruse, Flexner, Strong, Y, Paratyphus etc. nicht gefunden werden. Die Einwände, die Herr Kruse gegen die von mir in Galizien angestellten und dort sorgfältig durchgeführten Untersuchungen bei der galizischen Kriegsuhr des Sommers 1915 gemacht hat, sind nicht stichhaltig. Es sind Hunderte von Defäkationen unmittelbar nach der Entnahme von Ruhrkranken in noch warmem Zustande auf den verschiedenen Nährböden untersucht worden. Es wurden Tausende von Kolonien biologisch geprüft mit allen Hilfsmitteln kultureller Art. Weder bei den Kranken oder bei den Leichen, die bald nach dem Tode sezirt wurden, konnten damals Ruhrbakterien irgendeiner bekannten Art bzw. ruhrähnliche Bakterien oder Ruhramöben gefunden werden. Wir haben also neben der sogenannten bazillären Ruhr, bei der eine Vielheit von Erregern vorhanden ist und neben den Amöben sicher noch eine Ruhr, deren Ursache unbekannt ist. Wir wissen nun nicht, ob es sich hier wieder um eine andere Bakterienart, die nach dem bisher in der Ruhrforschung beschrittenen Weg als neuer, von den bisher bekannten differenten Ruhrerregern zu betrachten wäre oder um ein ultravisibles Virus handelt. Auch heute haben Sie von Herrn Czaplewski Befunde mitgeteilt erhalten, die zeigen, daß die Ätiologie der Ruhr weder eine einheitliche ist, noch vollkommen geklärt ist. Daran wird nichts geändert durch das Anzweifeln exakter Untersuchungen seitens des Herrn Kruse, der in solchen Fällen die mangelnde Übung oder ungenügende Technik der Untersucher zur Erklärung des Phänomens heranziehen möchte.

Mießner (Hannover): Ich möchte bitten, den Untersuchungen des Herrn Czaplewski mehr Beachtung zu schenken, weil es den Anschein gewinnt, als ob nach den Beobachtungen in der Veterinärmedizin den Kapselbakterien doch eine pathogene Wirkung zukommt. Ohne Kenntnis der Czaplewskischen Arbeit haben Lange und ich gelegentlich der Untersuchungen auf Milzbranderreger im Fischmehl hoch tierpathogene Kapselbakterien gefunden. Bei weiteren Nachforschungen konnten dann gelegentlich bei jungen Lämmern, Kälbern und Fohlen Kapselbakterien festgestellt werden. Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen; vermutlich müssen die Kapselbakterien als Ursache von Durchfällen bei jungen Tieren angesehen werden. Der Nachweis einer echten Kapsel (nicht nur einer Scheinhülle) wurde mit Hilfe der typischen Kapselfärbemethode gebracht.

Uhlenhuth: Ich möchte an den Herrn Vortragenden die Frage richten, ob er nicht auch serologische Untersuchungen z. B. den Widal mit dem Serum der Patienten resp. Rekonvaleszenten angestellt hat. Mir scheint die Erregernatur der Czaplewskischen Bazillen noch nicht genügend bewiesen zu sein.

Im übrigen möchte ich Herrn Kruse gegenüber betonen, daß in meinem Feldlaboratorium der Prozentsatz der positiven Ruhrbazillenbefunde doch immerhin ein ziemlich hoher gewesen ist, die vielen negativen Befunde beruhen doch wohl auf der Unvollkommenheit unserer Methodik des Nachweises der Ruhrbazillen und ihrer Hinfälligkeit.

Ob noch andere Mikroorganismen als die bisher bekannten als Erreger bestimmter Ruhrformen in Betracht kommen, ist möglich, aber noch nicht bewiesen.

#### Mandelbaum.

Jos. Koch (Berlin): Für die so verschiedenen und unbefriedigenden Ergebnisse des Nachweises der Ruhrbazillen wird meiner Meinung nach der pathologisch-anatomische Befund der erkrankten Darmpartien zu wenig berücksichtigt. Je frischer der Krankheitsprozeß, desto besser gelingt auch der Nachweis der Bazillen. Wenn der Ruhrkranke in das Lazarett kommt, befindet sich der erkrankte Dickdarm schon in einem vorgeschrittenen Stadium, er bildet nur noch eine große Geschwürs- und Granulationsfläche, die Blut und Schleim absondert, Substanzen, die auf die in diesem Stadium nicht mehr zahlreichen Bazillen auch noch bakterizid wirken, sie abtöten oder derart schädigen, daß sie auf den Nährböden nicht mehr wachsen. Ausstrichpräparate von Blut und Schleim der Ausscheidungen eines Ruhrkranken enthalten öfter eine große Menge von Stäbchen, die man auf Grund vergleichender Studien wohl als Ruhrbazillen ansprechen kann. Trotzdem kommen diese Keime auf den Nährböden nicht mehr zur Entwicklung. Sie sind bereits tot, wenn sie aus dem Körper ausgeschieden werden.

Czaplewski (Schlußwort): Wie er bei seinem Vortrage selbst bereits hervorgehoben habe, hätte er sich auf allerlei Widerspruch und Einwände namentlich von seiten Kruses gegen die von ihm vorgetragene neue Auffassung, daß Kapselbazillen des *Lactis aërogenes*-Typus als Ruhrerreger auftreten können, gefaßt gemacht. Er hätte namentlich erwartet, daß man diese Kapselbazillen als ubiquitär und harmlose Saprophyten abzulehnen versuchen würde. Kruse habe aber behauptet, daß es sich auch in den Fällen, wo man keine „echten“ Ruhrbazillen gefunden habe, doch um echte Bazillenruhr gehandelt habe. Man hätte die Ruhrbazillen eben aus irgendwelchen Gründen, namentlich Mangel an Technik, nicht gefunden. Dem müsse Cz. widersprechen. Die Kriesruhr habe den Bakteriologen eine vollkommene Enttäuschung gebracht. Während in Friedenszeiten der Nachweis der Shiga-Kruse-Bazillen und auch anderer Ruhrbazillentypen unschwer, zum Teil in bis 90—100 Proz. der Fälle, gelang, mißlang er bei der Kriesruhr fast vollständig. Erst später traten dann wieder positive Befunde auf. Diesen Mißerfolg könne man wohl hinter der Front mit schlechteren Untersuchungsverhältnissen zu erklären versuchen, nicht aber bei Untersuchungen in der Etappe und in der Heimat, die mit aller Ruhe in wohleingerichteten Laboratorien von mit Ruhrbazillenzüchtung wohlvertrauten Untersuchern mit ganz frischem Material direkt vom Kranken ausgeführt wurden. Er stehe daher auf dem Standpunkt von Kollé und Dorendorf, daß, wenn in diesen Fällen die Ruhrbazillen nicht gefunden wurden, sie eben nicht da waren. Wenn Ruhrämöben nachgewiesen würden, verlange man doch auch nicht die Shiga-Kruseschen Ruhrbazillen und umgekehrt. Außer den Ruhrämöben und Shiga-Kruse-Bazillen sei aber bereits eine ganze Zahl anderer „Ruhrbazillen“ beschrieben und nicht oder weniger als gelegentliche Erreger von Ruhrformen anerkannt. Das gleiche erhoffe er jetzt für die Kapselbazillen. Während vor seiner Publikation niemand von Kapselbazillen bei Ruhr gesprochen habe, würden sie jetzt von verschiedenen Seiten als reichlicher Befund angegeben, so von Oscar Woltmann in Galizien (Deutsche med. Wochenschr. 1918. Nr. 1). W. bestätigte damit ausdrücklich Cz.s Angaben über ihr reichliches Vorkommen in Ruhrstühlen, ziehe aber trotzdem daraus Schlüsse, denen Cz. nicht beizupflichten vermöge.

Es käme doch vor, daß nebeneinander Fälle von Amöbendysenterie und solche mit Shiga-Kruse-Bazillen gefunden wurden (Zuruf: Mischinfektion!), sowie Fälle mit Shiga-Kruse und Flexner oder einem der anderen sogenannten Pseudobazillen (Zuruf: Mischinfektion!), ja bei demselben Falle könnten Amöben und Shiga-Kruse-Bazillen oder Shiga-Kruse-Bazillen mit einer der anderen Arten nachgewiesen werden. (Mischinfektion!) Zugegeben! Nun behauptet aber Woltmann, die Kapselbazillen könnten trotz ihres reichlichen Vorkommens nicht als Erreger der Ruhrfälle angesprochen werden, weil sie sich namentlich am Anfang der Epidemie mit Shiga-Kruse-Bazillen vergesellschaftet vorfinden und weil durch den „repräsentativen“ Nachweis der Kruse-Bazillen die Epidemie echte Ruhr festgestellt war, was auch mit dem schweren klinischen Bild der Fälle<sup>1)</sup> gut zusammenginge.

1) Auch die Kölner Fälle ohne Shiga-Kruse zeigten vielfach allerschwersten Befund! Cz.

Diesen Schluß K.s halte Cz. nicht für zulässig. Wenn Amöben + Kruse-Bazillen gefunden würden oder Kruse + Flexner usw., also verschiedene anerkannte Ruhrerreger, wer sei dann der repräsentativere? Die Versammlung habe sich mit Zuruf allgemein für Mischinfektion ausgesprochen, eine Ansicht, die Cz. durchaus teile. Wenn man dies aber für die anerkannten Ruhrerreger zugebe, warum wolle man dann für die säurebildenden Kapselbazillen vom *Lactis aërogenes*-Typus eine Ausnahme machen, die bei Kälbern und kleinen Versuchstieren ruhrartige Erkrankungen bzw. hämorrhagische Enteritis mit Folgeerscheinungen zu machen vermögen?

Wenn neben den Dysenterieamöben die Shiga-Kruse-Bazillen, dann die Flexner-, Strong-, Y-Bazillen u. a. anerkannt seien, warum wolle man dann den Kapselbazillen die Fähigkeit, gewisse Ruhrformen zu erzeugen, absprechen, wo doch bereits genügend Material zur Stütze vorliege? (Zuruf Kruse: „Na meinetwegen.“) Dann seien sie ja einig! Wie er bereits im Vortrage betont, beabsichtige er durchaus nicht, die ätiologische Bedeutung des alleinseigmachenden Shiga-Kruse-Bazillus zu leugnen und anzufechten. Es genüge ihm, wenn anerkannt werde, daß gewisse Ruhrformen durch Kapselbazillen des *Aërogenes*-Typus verursacht würden. Mit seiner Anschauung, daß diese schwere Enteritiden beim Menschen hervorzurufen vermögen, befinde er sich übrigens in sehr guter Gesellschaft, denn Abel (und Wilh. Hallwachs, Die Kapselbazillen. Kollé-Wassermann, 2. Aufl. 1913. Bd. 6. S. 538) betont ausdrücklich, daß sie bei gewissen Brechdurchfällen massenhaft und fast in Reinkultur gefunden werden und bemerkt, nach dem Ausfall der positiven Fütterungsversuche könne die Fähigkeit der Kapselbazillen, Darmkatarrhe zu erzeugen, nicht bezweifelt werden.

Gaffky aber habe (worauf Cz. von Kibbalt liebenswürdigerweise aufmerksam gemacht wurde) in der Festschrift für Robert Koch eine kleine Enteritisepidemie durch Kapselbazillen beschrieben. Von einer objektiven Nachprüfung an reichem Material erwarte Cz. weitere Bestätigung bez. des häufigen Vorkommens der Kapselbazillen bei Ruhr und ihrer Bedeutung für diese Fälle.

#### 14. Vortrag. St. Plasaj (Agram) und E. Přibram (Wien):

##### I. Ueber die Eigenbewegung und Begeißelung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

Es wurden schon einige bewegliche Bakterien beschrieben, die aber sonst Charakteristika der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie besitzen, z. B.: *B. phasianidarum mobile* Klein, dann der auch von Klein beschriebene Erreger einer Moorhühnerseuche, ferner Mc Fadyeans ähnliche Kleinwesen bei einer infektiösen Pneumonie der Trutzhühner und der von Kraus beschriebene gramnegative Erreger einer influenzaartigen Kaninchenseuche *B. rodentiperda* (Kraus) L. et N.

Das blieb einigermassen unbeachtet und man hält noch heute an der ursprünglichen Definition des Artbegriffes des *Bact. septicaemiae haemorrhagicae* fest, während man die erwähnten und ähnliche bewegliche Bakterien an die unbeweglichen und unbegeißelten Vertreter des *B. septicaemiae haemorrhagicae* gegen alle Prinzipien einer guten Systematik anlehnt.

Unserer Ansicht nach sind Eigenschaften der Eigenbewegung und Begeißelung mit den Eigenschaften der Unbeweglichkeit und Nichtbegeißelung koordiniert, woraus folgt, daß man in der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie die erwähnten Bakterien als begeißelte Varietäten den unbegeißelten gleichsetzen müsse.

Wenn bisherige Untersuchungen dafür etwa keinen genügenden Grund geboten haben, hoffen wir es mit unseren Untersuchungen geliefert zu haben, welche ergaben, daß unter den Stämmen, die als Repräsentanten des *Bacterium septicaemiae haemorrhagicae*

gelten, die Anzahl der Begeißelten sogar größer ist als diejenige der Geißellosen.

Zu unserer Untersuchung wurden Stämme genommen, die sich in der Králschen Sammlung (in Wien) befinden. Es wurden im Ganzen 20 Stämme auf Eigenbewegung und besonders auf Begeißelung untersucht. Die Stämme sind meistens von unseren besten Autoren dem Museum überlassen worden.

In der Tabelle (I) sind die Ergebnisse der Untersuchung in systematischer Uebersicht enthalten, und zwar nur für 15 Stämme, deren Zugehörigkeit in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie außer Zweifel steht.

Tabelle I.

Unbegeißelt (Gymnostämme)	Eigenbewegung	Begeißelt (Trichostämme)			
		mit 1 Geißel	Eigenbew.	mit 1—3 Geißeln	Eigenbew.
<i>B. gallinarum</i>	—	—	—	—	—
<i>B. phasianicida</i>	—	<i>B. e. Kanarienvogelseuche</i> Pfaff	?	<i>B. sept. haemorrh.</i> aus Abszeß bei Kaninchen Zeiß	+
<i>B. sept. haemorrh.</i> aus Truthahn	—	<i>B. e. Kanarienvogelseuche</i> Zeiß	+	<i>B. cholerae gall.</i> von Piorkowski)	+
—	—	<i>B. cuniculicida</i>	—	<i>Coccobacillus avicida</i> (von Piorkowski)	+
<i>Pasteurella pneumoniae equi</i>	—	<i>B. equisepticum</i>	—		
<i>B. suisepiticum</i> (von Sanfelice)	—	<i>B. cholerae gallinarum</i> (von Ficker)	—		
		<i>B. suicida</i> (aus Würzburg)	—		
		<i>B. suisepiticum</i> (von Aujeszky)	—		

Die Tabelle zeigt, daß  $\frac{1}{3}$  dieser Stämme, obzwar sie als unbeweglich von den Autoren beschrieben wurden (*B. sept. haemorrh.* aus Abszeß bei Kaninchen Zeiß, *B. einer Kanarienvogelseuche* Zeiß, *B. einer Kanarienvogelseuche* Pfaff) bzw. als Repräsentanten der als unbeweglich geltenden Gruppe des *B. sept. haemorrh.* dem Museum übersendet wurden, Eigenbewegung zeigte. Aus der Tabelle ist noch die interessante Tatsache ersichtlich, daß es in der Gruppe Stämme gibt, die, trotzdem sie keine Eigenbewegung zeigen, doch begeißelt sind.  $\frac{2}{3}$  aller untersuchten Stämme sind nämlich begeißelt. Die Eigenschaft des Vorhandenseins einer Eigenbewegung reicht (in der Tabelle) nicht so weit von rechts, wo sie gut ausgeprägt ist, nach links, als die Begeißelung, d. i.: die Begeißelung wird fast in der ganzen Kolonne der Monotrichie durch Unbeweglichkeit verdeckt.

Es sind begeißelt, im Gegensatz zu der bisherigen Auffassung, alle 3 Geflügelcholera Stämme (2 von Piorkowski, 1 von Ficker) und 2 Schweineseptikämie Stämme (1 von Aujeszky, 1 aus Würzburger Sammlung), die bisher stets als geißellos beschrieben wurden; desgleichen *B. equisepticum* und *B. cuniculicida*. Die von Zeiß

und Pfaff herausgezüchteten und als geißellos beschriebenen Kanarienvogelseuchebakterien, dann das von Zeiß aus einem tuberkulose-ähnlichen Abszeß beim Kaninchen herausgezüchtete und als geißellos beschriebene gramnegative Stäbchen fanden wir auch begeißelt.

Die Begeißelung in der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie ist durch die Oligotrichie charakterisiert. Die Mehrzahl der Stämme, bei denen uns die Geißeldarstellung gelang, sind keine Eigenbewegung zeigende Monotrichier.

Bei allen eingeißeligen Bakterien dieser Gruppe wurde festgestellt, daß die Geißel ihren sichtbaren Ursprung nicht am Pole, sondern immer etwas seitwärts, also peripolar, oder ganz auf der Seite, äquatorial, nimmt. Eine monotriche Begeißelung im Sinne Messeeas, d. h. eine polare Geißel an einem Ende, wurde von uns beim *B. sept. haemorrh.* nicht gesehen.

Als Geißeln wurden nur diejenigen faden- oder wurzelförmigen Gebilde angenommen, die einen schraubenlinienähnlichen (sinuslinienähnlichen) Verlauf zeigten, während die verschiedenartigen geradlinigen, manchmal sehr langen Fäden (auch bei *B. gallinarum* und *B. phasianicida* gesehen) wohl keine Geißeln sind.

Es sei noch eine, einige biologische Eigenschaften der untersuchten Bakterien zur Uebersicht bringende Tabelle (II) angeführt, die in derselben Weise vom Standpunkte der Begeißelung (die nicht begeißelten

Tabelle II.

Eigenschaft der	<i>B. gallinarum</i> Klein	<i>B. phasianicida</i> Klein	<i>B. aus Truthahn</i>	<i>Pasteurella</i> <i>pneumon. equi</i>	<i>B. suissept.</i> (von Sanfelice)	<i>B. einer Kanarienvogelseuche</i> Pfaff	<i>B. einer Kanarienvogelseuche</i> Zeiß	<i>B. cuniculicida</i>	<i>B. equisepticum</i> (von Aujezky)	<i>B. chol. gall.</i> (von Ficker)	<i>B. suicida</i> (aus Würzburg)	<i>B. suissepticum</i> aus Würzburg)	<i>B. sept. haemorrhag.</i> aus Abszeß bei Kaninchen Zeiß	<i>B. cholerae gall.</i> (von Piorkowski)	<i>Coccobac. avi-</i> <i>cida</i> (v. Piorkowski)
Trauben- zuckervergär.	—	—	—	—	++	—	—	+	++	++	+	++	—	++	++
Indolbildung	—	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Milchgerin- nung	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	—	+	++

Zeichenerklärung: + = Traubenzuckervergärung bzw. Indolbildung, Milchgerinnung; ++ = dasselbe in starkem Maße; — = keine Traubenzuckervergärung usw.

Stämme links und dann die begeißelten Stämme immer mehr und mehr je nach der Geißelzahl rechts bringend) zusammengestellt ist. Die Vermutung, daß es vielleicht auf diese Weise gelingt, unter den Artrepräsentanten, die in bezug auf die biologischen Eigenschaften keine systematische Gruppierung zuließen, eine Regelmäßigkeit zu erblicken, hat sich ziemlich verwirklicht. Man sieht, daß die Negativität der Traubenzuckervergärung, der Indolbildung und der Milchveränderung eine Eigenschaft der Gymno- und teilweise auch der Monotrichstämme ist. Sie wird zwar durch den Stamm *B. suissepticum* (von Sanfelice) total und durch die *Pasteurella pneumoniae equi* (aus Rotterdam) — ein Stamm, der auch anderweitig abweicht — partiell unterbrochen und zeigt sich partiell wiederum auch bei stärker begeißelten Stämmen, aber

daß sie links dominiert, ist klar sichtbar. Man gab zwar auch bis jetzt an, daß das *B. sept. haemorrh.* meistens Gas nicht bildet und die Milch nicht verändert, aber ohne daß man eine Reihe der Stämme, wie z. B. *B. suis* (von Sanfelice), *B. cuniculicida* (von Aujeszky), *B. equisepticum* (von Aujeszky), *B. cholerae gallinarum* (von Ficker), Würzburger und Aujeszky'sche Schweineseptikämie und zwei Piorkowskische Stämme aus der Gruppe ausschließen müßte, erscheint diese Behauptung nicht möglich. Richtiger erscheint die Angabe, daß die Gasbildung bald vorhanden ist, bald nicht, denn, wenn man die Stämme diesbezüglich untersucht, ohne, wie es bis jetzt auch geschah, die Begeißelung zu berücksichtigen, so kann man für gewöhnlich nur zu dem Schlusse kommen.

Von der Indol- und Säurebildung heißt es, daß sie oft kräftig ist. Wir sehen, daß die Indolbildung mehr die Eigenschaft der von dem bisherigen Artbegriffe (geißellos!) entfernteren Stämme ist.

Nachdem wir also bewiesen haben, daß es unter den Repräsentanten der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie viele begeißelte gibt, schlagen wir vor, daß man aus der Definition dieser Bakterien das Merkmal der Geißellosigkeit entfernt und die Bakterien dieser Gruppe nach ihren trichologischen und mit diesen parallel gehenden biochemischen Eigenschaften einteilt. Nähere systematische Vorschläge sind in unserem zweiten Referate „Zur Systematik der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie“ angegeben.

## II. Ueber die Eigenbewegung und Begeißelung des *B. pseudotuberculosis rodentium* (Preis) L. et N.

Ueber das Vorhandensein der Geißeln beim *B. pseudotuberculosis rod.*, das meist als geißellos geschildert wird, sind in der Literatur zwei Angaben verzeichnet.

Klein berichtet: Obgleich die Bazillen im hängenden Tropfen keine Eigenbewegung zeigen, lassen sich dennoch durch die van Ermengensche Silbermethode an einzelnen Bazillen eine oder selbst zwei endständige kurze spiralige Geißeln nachweisen. Byloff fand, daß das Bakterium an einem Polende eine Geißel trägt, die nicht ganz so lang ist, als der Bazillenleib. Die Eigenbewegung war nur schwach vorhanden.

Zu unserer Untersuchung wählten wir Stämme aus dem Králschen Museum (in Wien), und zwar sind es die Stämme:

- 1) von Preis (?),
- 2) „ Sanfelice,
- 3) „ Vincenzi,
- 4) „ Albrecht,
- 5) „ Lieske,
- 6) „ Weltmann; dann

7) *B. opale aglicum* (Vincenzi) L. et N., ein von Vincenzi gezüchteter Erreger der bazillären Pseudotuberkulose, der sich jedoch wegen des bläulichen Farbtones der auf Gelatine gewachsenen Kolonien und des starken Knoblauchgeruches der bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen von dem Pfeifferschen Typus unterscheidet.

Gut gelang uns die Geißeldarstellung nur bei Stämmen Albrecht und Sanfelice und beim (atypischen) Stamme Vincenzi. Die Geißeldarstellung gelang nur in äußerst seltenen Fällen. Es wurden nur ein-



geißelige Individuen beobachtet. Die Geißel steht nicht polar, sondern extrapolar, zwischen Pol und Aequator. Bei anderen Bakterien sieht man in Präparaten nur Andeutungen von Geißeln, die in Körner zerfallen sind. An einigen Individuen haben aber die kaum sichtbaren bräunlichen Körner die wellenförmige Anordnung beibehalten und man sieht, wie das perlschnurartige Gebilde immer an der typischen Stelle des Bakterienkörpers, zwischen Pol und Aequator, seinen Ursprung nimmt. Sehr groß ist die Anzahl jener Individuen, bei denen solche perlschnurartige Gebilde kurz sind, nur aus 2—3 Körnern bestehend, die aber auch nie polar, sondern wie die gut gefärbten Geißeln zwischen Pol und Aequator, angebracht sind.

Wir haben keinen Grund zu behaupten, daß jene Gebilde, die, wenn auch diskontinuierlich gefärbt, in bezug auf ihre Breite (und Länge), wellenförmigen Verlauf und konstante Lokalisation an dem Bakterienkörper mit den gut dargestellten Geißeln übereinstimmen, keine Geißeln sind. Sie sind Geißeln, bei welchen nur die Körner (etwas) gefärbt sind, während die Zwischensubstanz farblos blieb.

Das Wenigste, was wir behaupten können, ist, daß es unter den Repräsentanten des *B. pseudotuberculosis rodent.* (Preis) L. et N. Stämme gibt, die begeißelt sind. Wir bestätigen die Geißelbefunde von Klein (und Byloff) quoad numerum, nicht aber quoad localisationem.

#### 15. Vortrag. E. Přibram (Wien) und St. Plasaj (Agram):

#### Zur Systematik der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

Der Befund, daß bei zahlreichen, wenn auch nicht allen Vertretern der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie Geißeln nachweisbar sind, führt unmittelbar zu der Frage nach der Stellung dieser begeißelten Stämme im System der Bakterien, vor allem zur Frage, wie unterscheiden sich diese von den zur Paratyphusgruppe gehörigen Krankheitserregern ähnlicher Art? Wir werden gleich sehen, daß wir nicht nur die alte, bewährte Einteilung beibehalten können, sondern daß sie durch unsere Befunde noch besser fundiert wird, als dies bisher der Fall gewesen ist. Allerdings, müssen wir hinzufügen, wird hier wie auf allen Gebieten der Bakteriologie mit fortschreitender Erkenntnis das starre System durch ein modellierungsfähigeres ersetzt werden müssen, in welchem Uebergangsformen Platz haben, die zwischen den beiden extremen Vertretern stehen. Nicht das Vorhandensein der Geißeln allein ist dabei maßgebend, sondern auch ihre Zahl, ihre Anordnung und besonders die Zahl der begeißelten Individuen einer Kultur. Mit der Art der Begeißelung geht die fermentative Säurebildung auf Zuckernährböden, die Indolbildung und fermentative Milchgerinnung ziemlich gut parallel und stützt auf diese Weise die im Folgenden zu besprechende Einteilung; dagegen tritt die Herkunft der Kultur, also die Rolle, bei welcher Tierart sie krankheitserregend gewirkt hat, stark in den Hintergrund, eine Tatsache, die zwar wohlbekannt ist, bei der Namengebung aber immer wieder außer acht gelassen wird, so daß Kulturen verschiedener Art gleich genannt werden, wesensgleiche verschieden.



Wir fanden innerhalb der untersuchten Gruppe, die wir aus später zu erörternden Gründen *Bacteria multoseptica* nennen wollen (*B. sept. haemorrh.* im engeren Sinne) folgende Unterabteilungen:

1) Typus  $\alpha$ . Bisher keine Geißeln nachgewiesen, keine Traubenzuckervergärung, keine Milchgerinnung, keine Indolbildung. (4 der untersuchten Stämme, die, nebenbei bemerkt, alle aus Vogelseuchen stammen: Hühner-, Kanarienvogel-, Fasan-, Truthahnseuchen.)

2) Typus  $\beta$ . Einzelne Individuen einer Kultur (Reinkultur) tragen eine oder zwei, einige auch mehrere extrapolar gestellte Geißeln; Traubenzuckergärung, Indolbildung, Milchkoagulation kommen vor, sind aber niemals alle drei bei einer Kultur vorhanden. Es finden sich alle Zwischenstufen, auch solche ohne Fermentwirkung und ohne Indolbildung, welche also dem erstgenannten Typus am nächsten stehen (beispielsweise *B. pneumoniae caviarum* Strada et Traina): Zwei ohne Indolbildung und ohne Fermentwirkungen, zwei Vertreter mit Indolbildung, ohne Fermentwirkungen, ein Vertreter mit Indolbildung und Traubenzuckervergärung, aber ohne Milchgerinnung, einer mit Traubenzuckervergärung, ohne Indolbildung und ohne Milchgerinnung, einer mit Milchgerinnung, ohne Indolbildung, ohne Traubenzuckervergärung. Sie entstammen Kaninchen-, Mehrschweinchen- und Vogelseuchen verschiedener Art.

3) Typus  $\gamma$  ist von dem vorigen morphologisch nicht zu unterscheiden, doch ist allen Vertretern dieses Typus (6 in unserer Liste) die Fähigkeit, Traubenzucker zu vergären, Milch zur Gerinnung zu bringen und Indol zu bilden, gemeinsam. Bei einem Vertreter des Typus konnten wir bei einmaliger Untersuchung keine begeißelten Individuen finden. Die Stämme wurden aus Vogelseuchen, Schweineseuchen, Pferdeseechen gezüchtet.

Diese Einteilung berücksichtigt mehrere wichtige Eigenschaften. Spätere Untersuchungen an einem größeren Material und unter Berücksichtigung von anderen Eigenschaften werden vielleicht zu weiterer Differenzierung, kaum aber zu einer prinzipiell anderen Einteilung führen; es sei hier erwähnt, daß die Komplementbindung zur Differenzierung dieser Stämme sich nicht geeignet erwiesen hat, weil die einzelnen Stämme wohl zu einer gemeinsamen Gruppe zusammengefaßt werden können, aber untereinander nicht identisch, auch biologisch vielleicht nicht nahe genug verwandt sind — oder weil die Komplementbindung hier nur stammspezifisch, aber nicht artspezifisch auftritt. Durch die Begeißelung einzelner Individuen des zweiten und dritten Typus wird von der Gruppe des *B. multosepticum* ein Uebergang geschaffen zu der Gattung, welcher das *B. cholerae* suum, *B. psittacosis*, *B. typhi murium* angehören und welche der großen Gruppe der sogenannten Paratyphusbakterien zugehören. Der wichtigste Unterschied zwischen diesen Hauptgruppen ist die peritriche Begeißelung der weitaus meisten oder schlechthin aller Individuen eines Stammes der letzteren. Ein Unterschied zwischen dem dritten Typus des *B. multosepticum* und den Vertretern der Paratyphusgruppe besteht in den Eigenschaften der Milchkoagulation und der Indolbildung, welche der Paratyphusgruppe fehlen, dieser Typus leitet also über zur Gruppe der *B. coli*; Zuckervergärung kommt beiden zu — es steht also biologisch das *B. cavi-septicum* Busson (unseres Typus  $\beta$ ) den Vertretern der Paratyphusgruppe am nächsten, zeigt auch peritriche Begeißelung, jedoch spär-

licher als die Stämme der Paratyphusgruppe. Diese Kultur können wir immerhin auch der Paratyphusgruppe zuzählen.

Ganz ähnliche Verhältnisse wie bei der Gruppe des *B. multosepticum* fanden wir bei der Gruppe des *B. pseudotuberculosis rodentium*, nach Albrecht richtiger *B. pseudopestis*. Plasaj fand bei einigen Stämmen der Králschen Sammlung einzelne begeißelte Individuen. Bei dieser Gruppe kommen, wie aus der Literatur hervorgeht, Stämme vor, welche Milch koagulieren (Galli-Valerio), sie röten Lackmusmolke (Mac Conkey), und bilden Säure aus Maltose. Ihre nahe Verwandtschaft zum *B. pestis* ist zur Genüge bekannt. Das *B. pestis* ist, wie auch aus unseren Untersuchungen an 13 Stämmen hervorgeht, unbegeißelt (Gordons Befund, daß einzelne geißeltragende Individuen vorkommen, hat sich bisher nirgends bestätigt). Das *B. pestis* zeigt keine fermentativen Eigenschaften, wohl aber geringe Indolbildung. Es steht also dem Typus des *B. multosepticum* recht nahe — ist natürlich durch die bekannten Wachstumserscheinungen und die Züchtbarkeit bei 30°, nicht aber bei 37° wohl unterscheidbar. Auch den unbegeißelten Stämmen des *B. pseudotub. rod.* steht das *B. pestis* recht nahe; wir wollen also diese drei Gruppen: *B. multosepticum*, *B. pseudotub. rod.* und *B. pestis* zu einer höheren Ordnung zusammenfassen, die wir wegen der bipolaren Färbbarkeit als *B. bipolaria* bezeichnen wollen (oder als *B. haemorrhagica* im weiteren Sinne). Wegen der morphologischen Eigenschaft der bipolaren Färbbarkeit erweiterten wir den Kreis unserer Untersuchungen auf die Bakterien der Rattenpest, welche in unserer Sammlung vorrätig sind, von denen wir alle bis auf eines peritrich begeißelt fanden. Dieser als *B. Danysz* bezeichnete Stamm ist der virulenteste von allen, weil kürzlich passiert, zeigt weder Indolbildung noch Säuerung der Lackmusmolke, wodurch er sich ebenfalls von den andern Vertretern der Gruppe unterscheidet, hat aber mit ihnen gemeinsam die lebhaft Gasbildung aus Traubenzucker. Wir haben es also hier zweifellos mit einem Stamm zu tun, der dem Typus  $\beta$  des *B. multosepticum* recht nahe steht, jedenfalls näher als den anderen Rattenbakterien, die in die Paratyphusgruppe zu verweisen sind. —

Bei unseren Untersuchungen der als zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehörig bezeichneten Stämme der Sammlung fanden wir einen, welcher als *Pasteurella pneumoniae equi* von Poels in Rotterdam gespendet, sich von allen anderen deutlich vor allem durch die Kleinheit der Bakterien, durch ihr kümmerliches Wachstum auf Agar, ihr besseres, aber stets streptokokkenartiges Wachstum auf eiweißhaltigen Nährböden unterschied. Die Kultur ist unbegeißelt, zeigt aber im Gegensatz zu den Vertretern des Typus des *B. multosepticum* starke Indolbildung. Sie ist bipolar färbbar. Sie ist nicht der einzige Vertreter ihrer Gruppe, die wir *B. albuminophila* nennen wollen; ich nenne hier beispielsweise das *B. felis* (*Streptococcus* der Katzenseuche) mit ähnlichen Eigenschaften (Fiocca). Fiocca reiht sein Bakterium, das er aus dem Speichel von Hunden und Katzen züchtete, das bipolare Färbbarkeit, streptokokkenartiges Wachstum zeigte und bei Injektion die Erscheinungen der hämorrhagischen Septikämie hervorrief (keine Milchkoagulation, keine Zuckervergärung), in die Gruppe des *B. influenzae* ein. Es unterscheidet sich von diesem aber durch den Mangel an Hämoglobinophilie. Ungezwungen reißen sich an diese zwei Vertreter tierpathogener Seuchenerreger die in neuester Zeit bei Grippe-

pneumonien von Cori und Trawinski (1918), von Coronini und Priesel (1918), sowie von Hundeshagen (1919) gezüchteten und beschriebenen influenzaähnlichen, nicht hämoglobinophilen, aber albuminophilen Kurzstäbchen mit Streptokokkencharakter („gramnegative Streptokokken“). Auch wir haben sie wiederholt in Händen gehabt. Sie sind, wie aus der Literatur hervorgeht, Erreger hämorrhagischer Pneumonien (Tierversuch), zeigen keine Gasbildung in Traubenzucker, rufen aber in Lackmusmolke schwache Säurebildung hervor. — Soweit sich aus Referaten entnehmen läßt, ist das von Spengler bei Grippe gezüchtete, als pestbakterienähnliches Polstäbchen beschriebene Bakterium wegen seiner Gasbildung aus Traubenzucker und anderer Eigenschaften im Gegensatz zu den eben erwähnten, der Gruppe der *B. albuminophila* zuzählenden Grippebakterien in die von uns als *B. multoseptica* bezeichnete Gruppe einzureihen. Innerhalb dieser gehört es zum Typus  $\beta$ . Zusammengefaßt können wir also folgende Gruppen wohl unterscheiden:

I. *B. septicaemiae haemorrhagicae* (*B. bipolaria*) — höhere Ordnung; dazu gehören:

1) *B. multosepticum* mit den Typen:

Typus  $\alpha$ , unbegeißelt, ohne fermentative Eigenschaften, ohne Indolbildung;

Typus  $\beta$ , Uebergang zu Typus  $\gamma$ . Hierher gehört u. a. das Spenglersche Bakterium und das als *B. Danysz* bezeichnete unbegeißelte Exemplar unserer Sammlung;

Typus  $\gamma$ , einzelne Individuen tragen eine bis drei extrapolare Geißeln, Indolbildung, Milchkoagulation, Gasbildung aus Traubenzucker.

2) *B. pestis*.

3) *B. pseudopestis* (*pseudotuberculosis rodentium*).

4) *B. parapestis* Fernet.

II. *B. albuminophila* (*B. felis* Fiocca, *B. pneumoniae* equi Poels, die Kurzstäbchen aus Grippepneumonien).

III. *B. haemoglobinophila* (*B. influenzae*, *B. tussis conv.* Bordet).

Der Typus  $\beta$  des *B. multosepticum* bildet gleichzeitig einen kontinuierlichen Uebergang zur Gruppe des *B. paratyphi* B mit seinen Vertretern: *B. typhi* murium, *B. Danysz*, *B. psittacosis*, *B. cholerae* suum, *B. dysenteriae vitulorum*. Der Typus  $\gamma$  bildete den Uebergang zu *B. coli*.

#### Diskussion.

Czaplewski betont, daß die Befunde der Herren Plasaj und Přibram bezüglich Eigenbewegung und Begeißelung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie und des *B. pseudotuberculosis rodentium*, falls sie, woran nicht zu zweifeln, Bestätigung finden, einen ganz fundamentalen Fortschritt bedeuten. Man dürfe sich mit diesen Feststellungen aber nicht begnügen, sondern müsse weiter festzustellen versuchen, was sie bedeuten! Namentlich müßte versucht werden zu entscheiden, ob es sich 1) um bewegliche begeißelte Schwärmerformen handelt, welche während einer bestimmten begrenzten Zeit auftreten, oder 2) um bewegliche begeißelte Geschlechtsformen.

Er verweist dabei auf die Tatsache, daß man bei Schimmelpilzen und bei Hefen (Barker, Guillermond) bereits Geschlechtsformen nachgewiesen hat, ein Faktum,

das von den Hefeforschern bereits rückhaltlos anerkannt ist, das aber den Anwesenden ein vollkommenes Novum zu sein scheint.

Wenn der Nachweis und die Beweisführung bei den Bakterien wegen der Kleinheit der Objekte auf noch viel größere Schwierigkeiten stoßen dürfte, dürfe man an der Lösung der Frage bei weiterem Fortschritt der Technik doch nicht verzweifeln.

Czaplewski erinnert ferner daran, daß schon von verschiedenen Seiten (Günther, Lehmann und Neumann u. a.) Beobachtungen vorliegen, daß bei gewissen Bakterien Eigenbewegung (und Geißeln) zeitweise (z. B. bei bestimmten Temperaturen) vorhanden sein, aber auch zeitweise fehlen können.

Kolle.

Pfeiler (Jena, a. G.): Eine wirklich beweisende Prüfung der Frage der Beweglichkeit der Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie muß mit Rücksicht auf die mögliche Verunreinigung von Kulturen, wie dies Kolle schon hervor gehoben hat, von Einzelkulturen ausgehen. Aus den Tabellen von Pfißram und Plasaj geht hervor, daß einzelne der von ihnen benutzten Repräsentanten uns bisher unbekannte biochemische Eigenschaften besessen haben. So sind z. B. Bakterien aufgeführt, wie der Schweineseuchebazillus, mit der Angabe, er koaguliere Milch. Es liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei diesem Stamme gar nicht um den echten Schweineseuchebazillus gehandelt hat. Der Umstand, daß die Stämme aus renommierten Sammlungen bezogen worden sind, besagt bei dem Zustande, in dem sich viele Sammlungen nach Kriegsschluß befunden haben, nichts.

Der von Pfißram und Plasaj an erster Stelle in ihren Tabellen aufgeführte Kleinsche Bazillus ist zwar nach meinen Untersuchungen unbeweglich, sicher aber kein Repräsentant der hämorrhagischen Septikämiegruppe. Ich habe ihn unter der Bezeichnung Hühnertyphus auf Grund seiner biochemischen und agglutinatorischen Eigenschaften in die Coli-Typhusgruppe eingereiht. Würde an ihm wirklich Beweglichkeit festzustellen sein, so würde dies meine Auffassung von seiner systematischen Stellung nur rechtfertigen.

E. Pfißram (Schlußwort): Zur Ausführung von Herrn Czaplewski möchte ich betonen, daß wir uns nur auf die Mitteilung von Tatsachen beschränkt haben. Eine Deutung in diesem oder jenem Sinne bedarf weiterer jahrelanger Untersuchungen. — Die Forderung Herrn Kolles, Einzelkulturen zu bearbeiten, ist berechtigt, doch konnten wir uns in der jetzigen Zeit in Wien keine Burrische Tusche verschaffen. Für die Reinheit der verwendeten Kulturen — auch ohne Einzelkultur — sprechen folgende Umstände: 1) Wir haben vor der Bearbeitung die Kulturen über Platten geschickt und aus Einzelkolonien abgeimpft; 2) Die einzelnen geißeltragenden Individuen sind in Form, Färbbarkeit, Größe, den anderen vollkommen gleich; 3) Wir kennen derzeit überhaupt keine Kulturen, welche eine einzige extrapolar stehende Geißel tragen oder ein an derselben Stelle entspringendes Geißelpaar; 4) Wir finden bei den verschiedenen Exemplaren dieser Gruppe — aber auch nur dieser Gruppe — derartige Individuen. — Herrn Pfeilers Zweifel an der Zugehörigkeit der genannten Bakterien zu der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie muß ich entgegenen, daß unter allen Stämmen der Krátschen Sammlung nur vier die in der Literatur postulierten typischen Eigenschaften besaßen, während alle anderen in irgendeinem Sinne abwichen, von den unbedeutendsten Abweichungen (schwache Indolbildung) bis zu den stärksten (Geißeln, Indolbildung, Zuckervergärung und Milchkoagulation) in allen Uebergängen. Alle Stämme waren aus sicheren Epidemien von tüchtigen Forschern gezüchtet, alle waren als zu dieser Gruppe gehörig eingesendet worden — nicht ich habe sie in diese Gruppe eingereiht — im Gegenteil, wir haben sogar einen Stamm der Würzburger Sammlung wegen Beweglichkeit und allgemeiner peritricher Begeißelung ausgeschaltet, und endlich: wohin sollen wir sonst diese Bakterien einreihen? Die Bakteriologie verlangt, wie gesagt, dringend nach einem modellierungsfähigeren System. — Die derzeitige Pathogenität der Stämme ist natürlich nicht maßgebend für ihre Einreihung im System, haben wir doch in der Sammlung 5 Peststämme, von welchen wir wissen, daß sie seit vielen Jahren völlig avirulent sind, obwohl sie ihre sonstigen charakteristischen Eigenschaften beibehalten haben.

**16. Vortrag. Mießner (Hannover):**

**Die Bedeutung der Präzipitations- und Komplementbindungsmethode zur Diagnostik der Lungenseuche.**

[Veröffentlicht in der Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. Nr. 37. S. 429.]

**17. Vortrag. C. Prausnitz und H. Küstner-Breslau:**

**Untersuchungen über die künstliche Uebertragung der Ueberempfindlichkeit gegen Fischeiweiß und andere artfremde Eiweißkörper.**

[Erscheint an anderer Stelle in diesem Centralblatt.]

**18. Vortrag. Huebschmann (Leipzig):**

**Demonstration zur Färbung der Ruhramöben.**

Von der Ueberlegung ausgehend, daß die meisten tierischen Parasiten mit einer Glykogenfärbung mehr oder weniger deutlich darstellbar sind, versuchte ich diese Färbemethoden auch zur Darstellung der Ruhramöben, zumal nach den neueren Untersuchungen diese Mikroorganismen stärkeartige Substanzen (Paraglykogen u. ä.) enthalten und auch in älteren Lehrbüchern sich hier und da schon die Bemerkung findet, daß die Ruhramöben sich mit Jod bräunen. Ich bediente mich zur Färbung der Bestschen Glykogenfärbung in Schnitten und verwandte dazu zunächst in Formalin gehärtete und in Spiritus aufbewahrte Därme von tropischer Ruhr, die seinerzeit von Herrn Dr. Schüffner aus Niederländisch-Indien an Herrn Geheimen Rat Marchand übersandt wurden. Die Färbung bewährte sich über alles Erwarten glänzend. Alles Material scheint zwar nicht gleich gut geeignet zu sein. Eine gewisse Rotfärbung der Amöben trat jedoch überall auf. Meist gelingt die Färbung so gut, daß sämtliche Amöben rein rot gefärbt erscheinen und sich gegen die mattblaue Umgebung ganz ausgezeichnet abheben. Vielleicht ist es für das sichere Gelingen der Färbung doch notwendig, eine direkte Alkoholfixierung vorausgehen zu lassen, da ja bekanntlich nur der Alkohol die stärkehaltigen Substanzen einwandfrei fixiert. Für Strukturstudien scheint die Methode nicht sonderlich geeignet zu sein. Soweit man nach meinen Präparaten feststellen kann, ist die glykogenartige Substanz diffus in der Zelle verteilt, zuweilen sieht man einige ungefärbte Vakuolen darin ausgespart. Die Methode ist geeignet:

- 1) Zur Demonstration der Ruhramöben überhaupt.
- 2) Ganz besonders zur Feststellung der Verteilung der Amöben im Gewebe, da sie ungemein leicht einen schnellen Ueberblick über die ganzen Präparate gestattet.

- 3) Dürfte sich die Methode in gewissen zweifelhaften Fällen zur Diagnosestellung eignen.

Ich glaube das nach der Untersuchung eines Falles von Leberabszeß sagen zu können, der von einem Missionar stammt, welcher schon vor langer Zeit die Tropen verlassen hatte und dann an einer sekundären Streptokokkeninfektion seines Leberabszesses starb, ohne daß im Darm irgendwelche Residuen der Ruhr festzustellen waren. In den Präparaten dieses Falles lassen sich trotz Formalinfixierung die Ruhramöben noch überall gut feststellen und selbst an solchen Stellen, die durch die Streptokokken-eiterung sehr schwere sekundäre Veränderungen zeigten. Im ganzen macht es den Eindruck, als ob die glykogenartige Substanz in den Amöbenzellen sehr fest sitzt.

Bisher scheint diese Färbung für die Darstellung der Amöben kaum angewandt zu sein. In dem Lehrbuch von Hartmann und Schilling wird sie zwar unter den Methoden für die Färbung der Protozoen genannt, jedoch besondere Bemerkungen über die Färbung einzelner Mikroorganismen finden sich dort nicht. In der Literatur findet sich im übrigen hier und da eine Angabe, daß die Färbung zur Darstellung gewisser Strukturen in einigen Protozoenklassen benutzt wurde. Nach meinen jetzigen Erfahrungen möchte ich sie für die gegebene Methode zur Darstellung der Amöben in mikroskopischen Schnitten bezeichnen.

10. Sept. 1920 nachmittags.

Vorsitzender: Kißkalt (Kiel).

19. Vortrag. Kuczynski (Berlin) (a. G.) und Wolff (Berlin) (a. G.):

**Pathogenetische Streptokokkenstudien.**

[Erscheint in der Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh.]

**Diskussion.**

Jacobsthal: Ich habe immer auf dem Standpunkt gestanden, daß es in der Streptokokkengruppe alle Uebergänge vom *Streptococcus haemolyticus* bis zum *Streptococcus viridans* und sogar *anahaemolyticus* gibt. Das, was wir bei der Züchtung eines Stammes aus dem Organismus feststellen, ist nicht etwa eine botanische Art, sondern nur ein biologischer Zustand des betreffenden Streptokokkenstammes. Trotzdem bleibt die Feststellung dieses Zustandes, wie sie Schottmüller zuerst gelehrt hat, von erheblicher klinischer Bedeutung. Da in meinem Laboratorium jedes Material grundsätzlich auch mit Blutgußplatten in steigenden Verdünnungen verarbeitet wird, haben wir häufig Gelegenheit zu beobachten, wie aus scheinbar einheitlichem Streptokokkenmaterial einzelne hämopeptische Kolonien sich neben hämolytischen entwickeln, oder wie sich um einen hämopeptischen Hof nachträglich ein hämolytischer bildet. In einem Fall von Cystopyelitis streptococcica fanden sich zuerst in Reinkultur massenhaft hämolyzierende Streptokokken, nach einigen Monaten in Reinkulturen massenhaft Streptokokken vom Typus des Viridans (Umwandlung?).

Auch bezüglich des Sauerstoffbedürfnisses gibt es alle Uebergänge. Nicht selten habe ich aus demselben Material in Reinkultur streng aerob wachsende hämolysierende Streptokokken gezüchtet, während bei Aussaat in anaeroben Schüttelkulturen nach Liborius im Traubenzuckerascitesagar sich streng anaerobes Streptokokkenwachstum

fand. In 2. Generation waren dann die Keime stärker aërophil. Das Phänomen erscheint bei Gebrauch von dem weniger guten Fleischextraktagar häufiger als mit Fleischbrüheagar.

**Bieling:** Die hämolytische Wirkung der Streptokokken auf der Schottmüllerschen Blutplatte ist recht labil, denn sie kann durch eine Reihe von Eingriffen mit Chemikalien oder mit Streptokokkenantikörpern zum Verschwinden gebracht werden. Auf derartige Schädigungen werden die Beobachtungen zurückgeführt, daß sich aus Hautfurunkeln und aus dem Urin von Sepsiskranken oder aus den Organen künstlich infizierter Mäuse die hämolytischen Streptokokken in anhämolysischen Formen herauszüchten lassen. Wegen dieser Labilität der Hämolysewirkung erscheint es unsicher, Schlüsse über Umwandlung von hämolytischen Streptokokken in Mitior-Formen im Tierkörper lediglich auf die Untersuchung auf der Blutplatte zu stützen. Es wird vielmehr gefordert, daß die umgewandelten Stämme auch die positiven Eigenschaften der echten Mitior-Stämme erworben haben. Als ein solches wird das Verhalten auf dem Blutwasseragar beschrieben.

Pferdeblut wird mit 2 Teilen Aqu. dest. versetzt und das entstehende Blutwasser bei 50–60° mit der gleichen Menge Agar mit oder ohne Traubenzucker versetzt.

So erhält man einen Nährboden, auf dem der Streptococcus mitior in charakteristischer Form wachsend sich sowohl von den Pneumokokken als auch von dem Streptococcus haemolyticus unterscheidet.

Der Pneumococcus bildet auf dem Blutwasseragar große, feuchte Riesenkolonien, die sich leicht als Ganzes abheben lassen. Bei mehrtägigem Wachstum entstehen zusammenhängende Beläge, die teilweise beginnen an der Unterfläche anzuhafte. Der Streptococcus haemolyticus bildet kleinere feuchte Kolonien, die sich mit der Oese leicht abstreichen lassen. Dagegen ist die Mitior-Kultur trocken, dunkelbraunviolett und haftet an der Unterfläche fest an, so daß sie mit der Oese nicht abgestrichen werden kann. Der Blutwasseragar besitzt also den Vorteil, gleichzeitig die 3 verschiedenen Kokkenarten zu unterscheiden.

Das charakteristische Wachstum des Streptococcus mitior wurde bei 9 Stämmen niemals vermißt. Dagegen verhielten sich anhämolysische Generationen der hämolytischen Streptokokken auf diesem Nährboden genau wie ihre Ausgangsstämme, die hämolytischen Streptokokken. Verwechslungen, wie sie bei alleiniger Verwendung der Schottmüllerschen Blutplatte unvermeidlich sind, könnten also hier ausgeschlossen werden. Es wird daher der Nachweis verlangt, daß der Haemolyticus im Tierkörper nicht nur seine Einwirkung auf den Blutfarbstoff verloren hat, sondern daß er auch die Eigenschaft des Mitior, Blutwasseragar anzufressen, neu gewonnen hat.

## 20. Vortrag. Joetten (Leipzig):

### Neuere Forschungen über Gonokokken.

[Erscheint in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten.]

## 21. Vortrag. W. Rosenthal (Göttingen):

### Phagozytose durch Endothelzellen.

[Erscheint in der Zeitschrift für Immunitätsforschung.]

### Diskussion.

Jos. Koch: Ich pflichte Herrn Rosenthal bei, daß die Bedeutung der Phagozytose durch Endothelzellen für manche Immunitätsfragen bisher unterschätzt worden

ist. In meiner Arbeit „Untersuchungen über die Lokalisation der Bakterien, die Veränderungen des Knochenmarks und der Knochen bei Infektionskrankheiten im ersten Wachstumsalter“ — Berl. klin. Wochenschr., 1914. Nr. 7 — habe ich kurz einen Versuch mitgeteilt, der die außerordentliche Fähigkeit der Endothelzellen, korpuskuläre Elemente und Bakterien an sich zu reißen, in überzeugender und einfacher Weise zur Anschauung bringt. Spritzt man z. B. einem Kaninchen eine entsprechende Menge einer Farbstoffemulsion, z. B. eine Tuschelösung in die Blutbahn ein und tötet das Tier wenige Stunden nach der Einspritzung, so erscheinen Leber, Milz und Knochenmark durch die Tusche schwarz gefärbt. Bei der histologischen Untersuchung findet sich der Farbstoff in den Gefäßendothelien dieser Organe abgelagert. Auch die Sternzellen der Leber, die Kupfferschen Zellen, sind mit Farbstoff stark gefüllt. Injiziert man zuerst Tusche und später Zinnober, so sieht man die schwarze Tusche und die roten Zinnoberkörnchen in den Endothelzellen der Kapillaren der genannten Organe einträchtig zusammenliegen.

**Rosenthal (Schlußwort):** Die Bedeutung der Endothelphagozytose ergibt sich aus dem weiteren Verlauf bei den Tieren, die man länger leben ließ: sie blieben meist gesund; aus Herzblutausstrichen wuchsen bald, am 2. Tage, keine Kokken mehr, aber auch aus Ausstrichen von Leber und Milz, den Organen, in denen hauptsächlich durch Endothelphagozytose die Kokken abgefangen und aufgespeichert werden, wuchsen am 2. Tage nach der Injektion nur spärliche Kolonien; bei einigen am 3. Tage getöteten Tieren blieben die Kulturen steril. Da nun schon nach  $\frac{1}{2}$ , sicher nach 1 Std. alle Kokken in Zellen eingeschlossen sind, geht also ihre Vernichtung innerhalb dieser Phagozyten vor sich.

Was die Bedeutung des Blutserums betrifft, so war seine Wirkung in diesen Versuchen ja vorhanden; aber es ging doch nur eine äußerst kurze Einwirkung der ausgedehnten Phagozytose voraus. Wahrscheinlich gelten für die Endothelphagozytose ähnliche Regeln, wie für die Leukozytenphagozytose: daß je nach der Bakterienart oder Virulenz einmal die vorhergehende Wirkung von Normal- oder von Immuns serum erforderlich ist, in anderen Fällen nicht, und daß manche hochvirulente, mit Kapseln versehene Bakterien überhaupt nicht gefressen werden. Durch Variation der geschilderten Versuche, wie sie 1914 von mir geplant war, würde sich dies entscheiden lassen. Inzwischen sind von Amerikanern teils in sehr ähnlicher Versuchsanordnung, teils mit ganz anderer Beobachtungen gemacht worden, die für die Geltung der an Leukozyten gefundenen Regeln auch für die Endothelphagozytose sprechen.

## 22. Vortrag. Uhlenhuth und Messerschmidt:

### Zur experimentellen Chemotherapie der Typhusbazillenträger und Gallenblaseninfektionen.

[Veröffentlicht in der Deutsch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 47.]

#### Diskussion.

**Jos. Koch:** Wenn Versuche zur Heilung der Typhusbazillenträger Erfolg haben sollen, dann müssen sie sich auf die Kenntnis der Lokalisation und der durch die Bazillen geschaffenen histologischen Veränderungen aufbauen. Die Befunde, die mein Mitarbeiter Chiarolanza und ich in der Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh., Bd. 62. 1908 über die Typhus-Gallenblaseninfektion beim Menschen und beim Kaninchen veröffentlicht haben, sind zwar von einigen Untersuchern bezweifelt, aber durch neue Untersuchungen von mir und meinem Mitarbeiter Kwasniewski bestätigt und erweitert worden. Sie sollen später veröffentlicht werden. Von großer Bedeutung für die Chemotherapie der Typhusbazillenträger ist die Tatsache, daß die Typhusbazillen nicht allein in der Gallenblase, ihrem Inhalt, in der Gallenblasenwand, in den Ausführgängen, sondern auch in der ganzen Leber sich ansiedeln und Verände-



rungen hervorrufen. Man kann 2 Formen unterscheiden, in denen die Bazillen in der Leber und Gallenblase anzutreffen sind: 1) die Häufchenform, sie ist die häufigere, und 2) die diffuse Verteilung, bei der die Bazillen regellos über Gallenblase und Leber verstreut vorkommen. Diejenigen, die also glauben, mit cholagogen Mitteln die Bazillen aus der Gallenblase ausschwemmen und dadurch den Träger von seinen Keimen befreien zu können, sind nicht auf dem richtigen Wege.

Redner demonstriert dann an einem Beispiel die Haufenbildung der Typhusbazillen in der Gallenblasenschleimhaut eines an Typhus Verstorbenen und die Veränderungen, kleine Herdnekrosen und Bindegewebswucherungen in Form kleiner zelliger Herde in der Leber.

Petruscky.

Uhlenhuth: Mit bezug auf die Ausführungen von Herrn J. Koch möchte ich bemerken, daß es ja eine längst bekannte Tatsache ist, daß die Typhusbazillen bei Bazillenträgern nicht nur in der Gallenblase und ihrer Wand, sondern auch in der Leber und ihren Gallengängen sitzen. Das ist ja in meinem früheren Straßburger Institut seinerzeit durch Forster, dann durch Messerschmidt, Bindseil, Goebel usw. nachgewiesen worden. Bei der von uns angewandten Chemotherapie hat das Medikament auch an diesen Stellen seine abtötende Wirkung ausgeübt, wie ja aus der bemerkenswert hohen Zahl der geheilten Kaninchen hervorgeht. Spontane Heilungen kommen höchst selten vor.

Unsere Farbstoffe gelangen bei intravenöser Einspritzung an die Stellen, wo die Typhusbazillen bei den Bazillenträgern sich finden. Das scheint uns für die Heilung der Bazillenträger von besonderer Bedeutung zu sein.

Kißkalt.

Jos. Koch bemerkt zu den Ausführungen von Uhlenhuth, daß seine Bemerkungen keineswegs die chemotherapeutischen Bestrebungen verurteilen, im Gegenteil, er hält diese Arbeiten für sehr verdienstlich und notwendig. Das Problem sei aber sehr schwierig; diese Schwierigkeiten könnten nur überwunden werden, wenn die tatsächlichen pathologischen Verhältnisse noch mehr Berücksichtigung fänden, als das bisher geschehen sei. Die Häufchenbildung der Typhusbazillen ist keine postmortale Erscheinung, sondern ein intravitaler Vorgang. Dafür spricht, daß auch im Tierexperiment eine derartige Haufenbildung zu beobachten ist, und daß in manchen Fällen Reaktionserscheinungen seitens des Gewebes um die Typhusherde vorhanden sind. Wichtig ist die Beobachtung, daß bei anderen Septikämien die gleiche Lokalisation der Erreger angetroffen werden kann. Ein Fall von klinischem Typhus stellte sich bei der bakteriologischen Sektion und der histologischen Untersuchung der Gallenblase als eine Streptokokkensepsis heraus. Die Lokalisation der Streptokokken in der Leber und der Gallenblase war fast die gleiche, wie bei einer Typhusgallenblase. Daß bereits vorhandene Typhusbazillenhäufen post mortem möglicherweise noch wachsen und sich vergrößern können, soll nicht bestritten werden. Bei Bebrütung von Typhusorganen kommt es wohl sicher zu einer Vergrößerung der bereits intra vitam vorhandenen Herde.

10. Sept. 1920 abends.

Vorsitzender: Kißkalt (Kiel).

23. Vortrag. L. Haendel, E. Gildemeister und Hans Schmitt (Berlin-Dahlem):

**Ueber Auswertung von Vakzine und Vakzineimmunseris.**

Anläßlich der in der Bakt. Abt. des Reichsgesundheitsamts durchgeführten Vakzinearbeiten haben wir uns auch mit Untersuchungen be-

züglich einer genaueren quantitativen Bestimmung des Virusgehaltes und der Virulenz verschiedener Lymphen sowie einer exakten Auswertung der Vakzinimmunsera beschäftigt, über deren Ergebnisse kurz berichtet werden soll.

Bei der Durchführung serologischer Vakzineversuche besteht naturgemäß das Bedürfnis, jeweils den Virusgehalt der benutzten Lymphe, der wohl auch mit ihrer Infektiosität in unmittelbarem Zusammenhang steht, genauer zu kennen. Es lag nun nahe, die von Gorini bereits im Jahre 1899 empfohlene Corneaimpfung am Kaninchen unter Berücksichtigung der nach dem Paulschen Verfahren schon makroskopisch sichtbaren Veränderungen für eine solche Bestimmung des Virusgehaltes und der Virulenz der einzelnen Lymphen zu benutzen, da die Kaninchenkornea für das Vakzinevirus selbst in hohen Verdünnungen gut empfänglich ist und das Paulsche Verfahren auf der Hornhaut ein gutes Erkennen auch ganz vereinzelter Infektionsherde ermöglicht. In der Tat erhält man mit Hilfe des Paulschen Verfahrens bei vergleichenden Serienimpfungen von Kaninchenaugen mit zunehmenden Verdünnungen verschiedener Lymphen im allgemeinen Bilder, welche eine der Zunahme der Verdünnungen entsprechende Abnahme der makroskopisch sichtbaren Veränderungen aufweisen und so ein Urteil über die Menge des Virusgehaltes bzw. über die Stärke der Infektiosität einer Lymphe gestatten. Trotzdem hat uns aber dieses Vorgehen in der Folge aus mehreren Gründen nicht befriedigt. Abgesehen davon, daß das Verfahren wegen seines hohen Tierverbrauchs so kostspielig ist, daß seine generelle Anwendung, namentlich unter den jetzigen Verhältnissen, nicht möglich ist, haftet ihm der Nachteil an, daß bei der Art, wie die Corneaimpfungen erfolgen müssen, die Impfung mit höheren Lympheverdünnungen doch mitunter gewissen Zufälligkeiten ausgesetzt ist, die für das Haften oder Nichthaften der Infektion eine Rolle spielen und den quantitativen Ausfall des Versuchs beeinträchtigen können. Außerdem hat das Verfahren den Nachteil, daß ein gleichmäßiger Abschluß eines solchen Auswertungsversuchs an einem bestimmten Tage nicht möglich und die mikroskopische Kontrolle der Befunde doch noch meist nötig ist.

Auch das von Calmette und Guérin angegebene Auswertungsverfahren, bei dem auf die rasierte Kaninchenhaut Einreibungen von fallenden Vakzinemengen vorgenommen werden, hat uns nicht befriedigt. Einmal ist bei dieser Methode der Tierverbrauch ebenfalls ein recht erheblicher, und es kann dabei, wie wir uns bei unseren Versuchen überzeugt haben, bei der Art der Impfung der Einfluß von Zufälligkeiten nicht sicher ausgeschaltet werden, so daß nicht immer eindeutige, sondern zuweilen auch solche Bilder erhalten werden, bei denen eine klare Beurteilung erschwert ist.

Dagegen hat uns die von Groth angegebene Methode der intrakutanen Impfung am Kaninchen für die Beurteilung der Virulenz einer Vakzine als Grundlage für experimentelle Versuche befriedigende Ergebnisse geliefert. Groth geht bei seiner Methode bekanntlich so vor, daß an einwandfrei enthaarten Kaninchen rein subepidermoidal je 0,1 ccm von fallenden Vakzineverdünnungen 1:10 bis 1:1000 0 eingespritzt werden. Die intrakutane Impfung führt, wie dies zuerst von Novotny und Schick gezeigt worden ist, zu spezifischen Gewebsveränderungen, welche als intensive Rötung und infiltrative Schwellung in Erscheinung treten und bei der Auswertung nach Groth deutlich der Menge des einverleibten Virus entsprechende Abstufungen erkennen lassen. Groth

bezeichnet nun Vakzine, welche in der Verdünnung 1:1000 bei intrakutaner Impfung ein deutlich positives Resultat nicht mehr ergibt, als nicht genügend virulent und für Impfzwecke beim Menschen ungeeignet. Nach seinen Angaben besteht eine weitgehende Uebereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Wertbestimmung am Menschen (Erst- und Wiederimpfung) und am Kaninchen.

Wir haben die Grothsche Methode einer eingehenden Nachprüfung unterzogen und können bestätigen, daß die am Kaninchen erhältlichen Bilder in der Tat klar und verhältnismäßig einfach zu deuten sind. Versuche, das Kaninchen durch das wesentlich billigere Meerschweinchen zu ersetzen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. Zweckmäßig ist aber die Verwendung von Albinos; jedenfalls müssen die Tiere eine weiße Haut besitzen. Auch empfiehlt sich zu dem nämlichen Versuch stets Tiere der gleichen Rasse zu nehmen. Die Höhe der Reaktion ist gewöhnlich zu Beginn des 4. Tages erreicht. Individuelle Schwankungen können jedoch nach unseren Erfahrungen vorkommen. Wir haben derartige Beobachtungen mehrfach gemacht. Die Auswertung eines Impfstoffes muß daher stets im Vergleich mit einer Vakzine von bekannter Virulenz gleichzeitig und in gleicher Weise an denselben Tieren erfolgen. Bei diesem Vorgehen haben wir uns überzeugt, daß die Grothsche Methode für experimentelle Versuche die eindeutige Wertbestimmung der Virulenz einer Vakzine gestattet. Ob allerdings der so am Tier festgestellte Virulenzgrad einer Lymphe ohne weiteres auch ihrem Wirkungswerte am Menschen entspricht, vermögen wir nicht zu entscheiden, da wir keine Gelegenheit hatten, nach dieser Richtung praktische Erfahrungen zu gewinnen. Wir möchten aber besonders darauf hinweisen, daß die einzelnen von uns geprüften, für die Impfung beim Menschen bestimmten Vakzinen, die von verschiedenen Impfanstalten Deutschlands bezogen waren, bei der Auswertung am Kaninchen, auffallende, außerordentlich erhebliche Virulenzunterschiede aufwiesen. Von 7 Impfstoffen, die wiederholt geprüft worden sind, besaßen 1 Impfstoff einen Bewertungsindex von 1:10000 und 2 einen solchen von 1:1000, während 3 Impfstoffe nur bei  $\frac{1}{100}$  und einer sogar nur bei  $\frac{1}{10}$  eine eben noch deutlich erkennbare Reaktion gaben. Es entsprachen sonach von den geimpften Impfstoffen nur 3 der von Groth aufgestellten Forderung eines Bewertungsindex von mindestens 1:1000, während 3 eine 10-fach geringere und 1 sogar eine 100-fach geringere Virulenz aufwiesen. Da Groth angibt, daß eine weitgehende Uebereinstimmung zwischen den Ergebnissen am Kaninchen und am Menschen besteht, und daß Impfstoffe mit einem Bewertungsindex unter 1:1000 für die Impfung am Menschen ungeeignet sind, so erscheint uns eine Nachprüfung in dieser Richtung bei diesen von uns festgestellten hochgradigen Virulenzunterschieden durch die Impfanstalten dringend geboten. Wenn es sich dabei ergeben sollte, daß eine solche Uebereinstimmung in der Tat besteht und eine für die Impfung am Menschen brauchbare Lymphe einen Bewertungsindex von mindestens 1:1000 aufweisen muß, so würde die Forderung der allgemeinen Anwendung so hochwertiger Impfstoffe zu stellen und die Verwendung der Lymphe für die Impfung am Menschen von einer vorherigen experimentellen Auswertung am Kaninchen abhängig zu machen sein.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß uns mit dem Grothschen Verfahren eine genauere Virulenzbestimmung der von uns bei unseren Versuchen benutzten Vakzinen möglich war, versuchten wir nunmehr

eine Methode auszuarbeiten, welche auch eine exakte Auswertung der von uns hergestellten Immunsera mit Lymphe von bekannter Virulenz gestattet. Die von Henseval und Convent hierfür vorgeschlagene Methode, die sich an die Calmette-Guerinsche Wertbestimmung der Vakzine anlehnt, schien uns nach den von uns mit der letzteren gemachten Erfahrungen nicht empfehlenswert, da die gleichen Nachteile, die bei der Calmette-Guerinschen Methode bestehen, auch für die Henseval-Conventsche Serumauswertung zutreffen. Weiterhin kam die Komplementbindungsmethode für den vorliegenden Zweck in Frage. Aus den Beobachtungen von Paschen und Jacobsthal ist bekannt, daß im Blutserum von Pockenkranken nach Ablauf der Krankheit Antikörper mit Hilfe der Komplementbindung nachweisbar sind. Auch wir haben zunächst mit unseren Immunseris Komplementbindungsversuche angestellt; indes befriedigten sie uns nicht, da die Ausschläge im ganzen gering und im allgemeinen nicht genügend oder nur schwer faßbar sind.

Wir sind alsdann dazu übergegangen, die Auswertung unserer Sera in der Weise vorzunehmen, daß wir sie in fallenden Mengen mit der gleichen Menge einer Lymphe von bekannter Virulenz mischten und nach 1—1½-stünd. Einwirkung die Gemische Kaninchen intrakutan injizierten. Bevor wir auf die Versuchsergebnisse näher eingehen, sei zuvor kurz über die Art der Gewinnung unserer Immunseren berichtet. Ihre Herstellung erfolgte in der Weise, daß wir Kaninchen Lymphe in steigenden Mengen in Abständen von einer Woche intravenös verabfolgten. Es empfiehlt sich hierbei, die Lymphe im Mörser gleichmäßig zu verreiben, sie im Verhältnis 1:10 mit Kochsalzlösung zu verdünnen und durch Filtrierpapier (Rapid Crepp-Filtrierpapier Nr. 86 von Max Dreverhoff in Dresden) zu filtrieren. Tierverluste sind alsdann gering. Nach 6 und mehr Injektionen erfolgte die Serumabnahme. Wir versuchten auch mit bakterienfreier Vakzine Immunsera herzustellen. Bakterienfreie Vakzine läßt sich bekanntlich nach dem Vorgange von Calmette in der Weise gewinnen, daß man Meerschweinchen in die Bauchhöhle Vakzine injiziert, wobei die Bakterien innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit durch Phagozytose vernichtet werden. Die aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens alsbald entnommene Flüssigkeit stellt eine allerdings verdünnte, aber meist keimfreie Lymphe dar. Unsere intrakutanen Auswertungsversuche sind jedoch hauptsächlich mit Seris ausgeführt worden, zu deren Gewinnung bakterienhaltige, vom Kaninchen stammende Lymphe Verwendung gefunden hat.

Die Technik der intrakutanen Auswertung von Vakzineimmunserum ist sehr einfach. Die Auswahl der Tiere und ihre Enthhaarung erfolgen in der gleichen Weise wie bei der Virulenzbestimmung nach Groth.

Auch hier ist der Einfluß der Tierindividualität zu berücksichtigen und die Auswertung der zu vergleichenden Sera an denselben Tieren vorzunehmen. Bemerkt sei, daß man Kaninchen bis zu 0,5 ccm Flüssigkeit mühelos intrakutan injizieren kann. Wir haben uns aber im allgemeinen auf eine Gesamtmenge von 0,2 ccm beschränkt. Im einzelnen gestaltete sich der Versuch folgendermaßen. Das Immunserum wird in fallenden Mengen von 0,2 ccm abwärts mit der gleichen Menge einer Vakzine oder Lapine in der Verdünnung 1:50 oder 1:100 von bekannter Virulenz ( $\frac{1}{1000}$  nach Groth) gemischt und nach verschiedenen Zeiten injiziert. Wird Serum und Lymphe sogleich nach dem Mischen intrakutan eingespritzt, so gelingt es im allgemeinen allerdings meist

nicht, das Auftreten einer Reaktion völlig hintanzuhalten, wenn auch eine deutliche Abschwächung derselben bei den größeren Serumgaben gut zu erkennen ist. Wenn jedoch die Injektion des Serum-Vakzinegemisches erst nach einer gewissen, z. B. 1-stünd. Einwirkungs-dauer stattfindet und das Serum genügend hochwertig ist, so tritt eine Reaktion, d. h. Rötung und infiltrierende Schwellung, nur noch an denjenigen Stellen auf, an denen die schwächsten Serumkonzentrationen eingespritzt waren, während mit zunehmender Serumkonzentration die Erscheinungen mehr abnehmen, bis schließlich überhaupt keine Reaktion mehr beobachtet werden kann. Wir erhielten bisher Immunsera, von denen noch 0,02 ccm genügten, um  $\frac{1}{100}$  ccm einer Vakzine mit einer Virulenz von  $\frac{1}{1000}$  vollkommen zu neutralisieren. Jedem dieser Versuche wurden die erforderlichen Kontrollen mit Normalserum und Virus bzw. Virus allein beigegeben. Bei diesem Vorgehen erhielten wir durch-aus klare und eindeutige Bilder und konnten so mit der von uns an-gewandten Intrakutanmethode die verschiedenen Vakzineimmunsere in einfacher Weise exakt auswerten.

In der Folge haben wir dann die ausgewerteten Sera auch auf ihren Schutzwert im Tierversuch sowie daraufhin geprüft, ob bei den ver-schiedenen Seris der etwaige Schutzwert in entsprechender Weise der mit unseren Verfahren erhaltenen Auswertung parallel geht. Zur Prü-fung dieser Frage benutzten wir wieder das Kaninchenauge. Wir gingen hierbei in der Weise vor, daß wir zunächst subkonjunktival das Immun-serum von 1 ccm an in fallenden Mengen injizierten, wobei in jedem Einzelfalle die Gesamtmenge der injizierten Flüssigkeit 1 ccm betrug. Eine Stunde darauf wurde die Kaninchenkornea in der üblichen Weise mit Lymphe von bekannter Virulenz, die auf 1:50 oder 1:100 ver-dünnt wurde, infiziert. 2 Tage darauf wurden die Augen enukleiert, so-fort nach Paul und später mikroskopisch untersucht. Es zeigte sich bei den Versuchen, daß Wertigkeit und Schutzwirkung der Sera parallel gehen, und daß es auf diese Weise gelingt, bei ausreichenden Serumdosen eine Erkrankung der Cornea zu verhüten. Bei hochwertigen Seris haben wir bisher noch mit 0,1 ccm einen vollkommenen Schutz beobachtet. Allerdings verliefen diese Versuche mitunter bei weniger hochwertigen Seris in quantitativer Hinsicht nicht immer vollkommen regelmäßig, in-dem zuweilen bei solchen Seris zwar die Serumdosis von 0,1 ebenfalls noch schützte, während z. B. die Dosis von 0,25 ccm einen völligen Schutz nicht mehr ausübte, wenn auch eine deutliche Abschwächung der Infektion gegenüber den Kontrollen noch festzustellen war. Versuche zur Aufklärung dieser Erscheinung sind noch im Gange, ebenso darüber, ob nach der prophylaktischen Serumanwendung vielleicht eine frühzeitig abortiv verlaufende Reaktion oder bei unterwertigen Serumdosen etwa noch ein verspätetes Auftreten der Infektionserscheinungen vorkommen kann. Bisher haben wir weder eine solche Verzögerung noch das Auf-treten einer frühzeitig abortiv auftretenden Reaktion beobachtet.

Abschließend möchten wir noch bemerken, daß bei unseren Unter-suchungen fortlaufend seit ca.  $1\frac{1}{2}$  Jahren von Hertel die Verände-rungen der Vaccine-Keratitis auch mit der Gullstrandschen Nernst-lampe untersucht worden sind. Hertel konnte dabei charakteristische Veränderungen an der Hornhautvorderfläche schon sehr frühzeitig fest-stellen, deren Spezifität sowohl durch Kontrollen im Paulschen Versuch wie mikroskopisch durch den Nachweis von Guarnierischen Körper-chen erbracht wurde. Man findet die Impfstellen am leichtesten in dem

von der Iris zurückgeworfenen, also durchfallenden Lichte, in welchem sie sich als dunkle, zarte Schatten abheben, mehr oder weniger rundlich, meist mit hellerem Zentrum. Im direkten Licht kann man bei schärfster Büschelbeleuchtung feine, unregelmäßige Gebilde sehen, die an der Hinterfläche der Cornea zu liegen scheinen. Es handelt sich dabei aber offenbar um optische Bilder der Veränderungen der Hornhautvorderfläche, welche auf die Hinterfläche projiziert worden sind. Es ließen sich daher auch irgendwelche anatomische Veränderungen an der Hornhauthinterfläche niemals nachweisen.

#### Diskussion.

**Uhlenhuth:** Ich möchte an den Herrn Vortragenden die Frage richten, ob das Serum auch gegen die kutane Vakzineinfektion bei getrennter Einspritzung geschützt hat. Ich würde es für ratsam halten, wenn Kaninchen mit steigenden Dosen von Lapine — nach Ueberstehen der kutanen Infektion — vorbehandelt würden und das Serum zur Behandlung pockenkranker Menschen verwendet würde. Man vermeidet so bei der Vorbehandlung die Anaphylaxie, auch sind Kaninchen bessere Serumlieferanten, als z. B. die Rinder, die ich früher mit Loeffler zur Gewinnung von Immunserum mit großen Dosen Vakzine vorbehandelt habe. Bei der Weilschen Krankheit erhielt ich von Kaninchen, die nach Ueberstehen der Krankheit weiter behandelt wurden, außerordentlich hochwertige Immunsera, die viel besser sind, als die Sera von Pferden, die gegen die Weil-Infektion sich refraktär verhalten, d. h. nicht an den Symptomen der Weilschen Krankheit erkranken.

#### Kolle.

**Mießner:** In den Balkanstaaten wird von der Ovation, d. h. der Impfung der Schafe mit Lymphe von pockenkranken Schafen umfangreich Gebrauch gemacht, weil sich hierdurch die Zahl der Todesfälle durch Pocken, wenn auch nicht wie bei der Variolatio vermeiden, so doch wesentlich herabmindern läßt. Die passive Immunisierung mit dem Serum von Schafen, die mit Pockenlymphe systematisch vorbehandelt sind, hat besondere Erfolge nicht gezeitigt. Mir scheint ferner die Gewinnung der Pockenlymphe, wie ich sie zuerst in Bulgarien (dorthin von Frankreich eingeführt) gesehen habe, besser als das bisherige Verfahren zur Gewinnung der Vakzine in der Humanmedizin. Die Schafe werden kutan unter aseptischen Kautelen am Bauche mit Hilfe einer Injektionsspritze mit Pockenlymphe infiziert. Die nach 10 Tagen entstandenen etwa talergroßen, beetartigen Papeln werden mit Hilfe von Klemmpinzetten abgeklemt und nach gründlicher Desinfektion der Oberfläche durch einen langen Schnitt geöffnet und die in der Schnittfläche sich ansammelnde Lymphe in sauberem Zustande und ohne Beimengung von korpuskulären Elementen gewonnen und zur Impfung verwendet.

#### Czaplewski.

**Gildemeister (Schlußwort):** Die Versuche sind von dem Gesichtspunkte aus aufgenommen worden, über die Wirkung hochwertiger Immunsera hauptsächlich auch bei ihrer therapeutischen Anwendung Aufschluß zu erhalten. Es war jedoch hierfür zunächst erforderlich, eine Methode zu finden, welche eine exakte Auswertung von Vakzineimmunseren gestattet. Nachdem uns dies gelungen ist, sollen nunmehr auch therapeutische Versuche in Angriff genommen werden. Bemerkt sei, daß zur Herstellung der Immunseren in der Regel Kaninchen verwendet wurden, die eine kutane Infektion überstanden hatten.

24. Vortrag. Emil Küster (Oberursel), Ludwig Lange und Paul Potthoff, Dahlem (vorgetragen von Lange):

### Ueber Säureagglutination.

Die nachstehenden Untersuchungen wurden im Reichsgesundheitsamt zum großen Teil schon 1919 von Küster ausgeführt; sie wurden seit Frühjahr 1920 von mir und Potthoff fortgesetzt. Mit Rücksicht auf den verfügbaren Raum können die Ergebnisse nur in ganz gedrängter Fassung unter Anführung einzelner Beispiele gebracht werden.

Ueber die Grundlage und die Technik der von Michaelis<sup>1)</sup> herührenden Säureagglutination brauche ich in diesem Kreise wohl nichts Näheres zu sagen. Die Ablesung erfolgte nach 1 Std. bei 37°, dann nach weiteren 2 Std. bei Zimmertemperatur. Diese 2. Ablesung wurde im allgemeinen als die maßgebende betrachtet. Nach Verlauf von weiteren 24 Std. war meist noch eine Verbreiterung der Agglutinationszone festzustellen.

Die Prüfungen an den einzelnen Stämmen wurden fast ausnahmslos wiederholt, wobei meist nur geringe Unterschiede auftraten.

Im folgenden seien zur Raumersparnis stets die Abkürzungen: SA. = Säureagglutination, A. = Agglutination, Opt. = Optimum, B. = Bakterien oder Bazillen angewandt und die 6 Röhrchen mit der steigenden H<sup>+</sup>-Konzentration durch 1–6 bezeichnet. Die Zeichen:  $\perp$ , +, ++, +++ bedeuten aufsteigende Grade der A. von Spur bis zu völliger Absetzung der Bakterien mit Klärung der überstehenden Flüssigkeit; 0 = A. negativ in allen 6 Röhrchen. 6 nebeneinander gesetzte Zeichen stellen die Befunde in den Röhrchen 1–6 dar, z. B. Ty „Ka“ 3 Std. — — + +++ +++ ++ (als „Reihe“ bezeichnet). Wo von positiver A. im allgemeinen gesprochen wird, ist mindestens der Stärkegrad von ++ (= starker Bodensatz mit noch leicht trüber oberstehender Flüssigkeit) in einem der 6 Röhrchen erreicht worden. Ausdrücke wie 24/37 bzw. 24/Z bedeuten 24-stündige Bebrütung bei 37° bzw. 24-stündiger Aufenthalt bei Zimmertemperatur.

Auf die Literatur kann im allgemeinen nur so weit eingegangen werden, als unsere Ergebnisse eine Abweichung von Angaben anderer Forscher zeigen.

Zunächst haben wir die B. der Typhus-Coli-Gruppe untersucht, weil gerade für diese eine diagnostische Verwertung der SA. als möglich bezeichnet wurde.

Bei 18 Coli-Stämmen fanden wir alle Uebergänge von 0 bis zur Reihe — + +++ +++ +++ +++; wo ein Opt. überhaupt bestimmbar war, lag es bei 5 oder 6. Ein Coli-Stamm „81“, der sich bei der SA. wie Typhus verhielt (s. unten), war gegen Typhusserum inagglutinabel.

Auch bei etwa 14 Typhusstämmen waren alle Uebergänge zu bemerken; doch gab die Mehrzahl A. in 3–6, mit Opt. in 4 und 5; einige Stämme waren in 3–6 +++.

Das Opt. liegt also nach unseren Befunden weiter rechts, als Michaelis<sup>2)</sup> angibt, und ganz allgemein haben wir, im Einklang mit Eisenberg<sup>3)</sup>, der von einem „hinziehenden“ Opt. spricht, recht „breite“ A.-Zonen beobachtet.

Die Paratyphus A-Stämme waren mit wenigen Ausnahmen, die in 4–6  $\perp$  bis höchstens + waren, ganz 0, verhielten sich also bemerkenswert gleichmäßig. Im Gegensatz zum Paratyphus A ergab sich für

1) Deutsche med. Wochenschr. 1911. S. 969.

2) a. a. O.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. 83. S. 70.

unsere verschiedenen Paratyphus B-Stämme nur ausnahmsweise eine völlig negative SA. Die meisten Stämme waren 5—6, ein Teil auch 3—6, sogar 2—6 +++ bis +++. Die Gärtner-Stämme verhielten sich dem Paratyphus A ähnlicher; bei ihnen überwogen die Stämme mit SA. = 0 und bei den übrigen war die SA. nur schwach positiv mit Opt. in 5 und 6. Von Michalis und Beniasch<sup>1)</sup> werden Paraty. A und B als sich gleichverhaltend angegeben, während unsere Befunde mit denen von Kosch<sup>2)</sup> und Jaffé<sup>3)</sup> übereinstimmen.

Sämtliche Ruhr- und Pseudoruhrstämme waren 0. (Auch die allgemein als besonders säureempfindlich bekannten Ruhrstämme waren 1 Std. nach Säurezusatz überimpft, noch lebensfähig.)

Auf Grund der vorstehenden Befunde möchten wir der SA. auch für die Typhus-Coli-Gruppe nur einen äußerst geringen differentialdiagnostischen Wert zuerkennen.

Bemerkenswert erscheinen uns die Befunde bei Proteus-Stämmen. Von X 19 und X 2 war die „O“-Form gänzlich negativ, während die „H“-Formen A. in 5—6, auch 4—6, mit Opt. in 6 zeigten. Also: „O“-Form SA. < „H“-Form. Bei Proteus „W“ dagegen: „O“-Form in 3—6, sogar in 2—6 SA. ++ bis +++, „H“-Form nur 5 und 6; also: „O“-Form SA. > „H“-Form.

Beziehungen der SA. zur Begeißelung drängen sich sofort auf. Wir werden unten noch darauf zu sprechen kommen. Gleich hier seien nur die sehr interessanten Befunde von Georgi<sup>4)</sup> erwähnt, wonach bei ganz unbeweglichen Formen der Erreger des Gasödem die SA. = 0 war und solche Erreger, die man durch passende Nährböden in eine unbewegliche Form überführen kann, dadurch ihre SA.-Fähigkeit einbüßten.

Bei Cholerastämmen waren ebenfalls Unterschiede festzustellen. Chol. „20“ war fast 0, Chol. „F“ war +++ in 5 und 6, bei Wiederholung sogar in 3—6. Milzbrand regelmäßig 1—6 +++.

Wir wenden uns zu Beobachtungen, die eine mangelnde Konstanz der gleichen Stämme bei der SA. dartun.

Von 13 Coli, die bei Küster ++ bis +++ waren, erwiesen sich neuerdings 12 als völlig 0; nur einer war ++ in 5 und 6. Entsprechendes war bei 4 Ty.-Stämmen der Fall.

Ein Beispiel für Schwankungen bei aufeinanderfolgenden Generationen: Coli „386“ 1. Gen. +++ (4—6), 2. Gen. 0 (!), 3. Gen. +++ (4 und 5), 4. Gen. +++ (4 und 5). Ähnliches wurde von Eisenberg beobachtet.

Einfluß von Alter und Bebrütungstemperatur der Kulturen:

	24/37	24/37 + 24/Z	48/37	} (Hier beziehen sich die Zeichen nicht auf einzelne Röhrchen, sondern geben das Gesamtbild der ganzen Reihe.)
Ty „St.“	0	+	+	
„ „Hö II“	0	+	++	
„ „Cich“	++	++	+	
„ „Ka“	0	+	0	

Wir haben also Beispiele für Zunahme, Abnahme und für Anstieg und Wiederabnahme der SA.-Fähigkeit vor uns.

Einfluß des Nährbodens. Nach Michaelis<sup>5)</sup> sollen von der

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 12. S. 268.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 60. S. 324.

3) Arch. f. Hyg. Bd. 76. S. 1.

4) Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther. u. Georg Speyer Haus. 1919. H. 7. S. 35.

5) a. a. O.



Drigalski-Platte weg alle Typhen typisch mit Opt. in 2 und 3 SA.-fähig sein. Bei uns erwies sich von 4 von Agar aus gut SA.-fähigen Ty-Stämmen von Drigalski aus 1 Stamm als 0, einer als + bis ++, 2 als ++++. Auch an 5 ganz frisch aus dem Körper gezüchteten Ty-Stämmen erhielten wir von Drigalski aus folgende ganz verschiedenen Ausfälle der SA.: 2—4 ++, 2—6 ++++, 3—6 ++++, ferner die Reihe: — — — ++++. Doch läßt ja nach Michaelis<sup>1)</sup> auch bei Agarkulturen von ganz frischen Stämmen die SA. im Stich, was wir, ebenso wie Beintker<sup>2)</sup> bestätigen konnten.

Von der Endo-Platte aus erhielten wir stets nur völlig negative SA. (im Gegensatz zu Kosch<sup>3)</sup>).

Bei Züchtung auf erstarrtem Serum beobachteten wir, im Einklang mit Eisenberg<sup>4)</sup>, meist eine Begünstigung der SA. und eine Verschiebung der A.-Zone nach links. So ergaben von 4 Typhen, die von Agar aus 0 oder fast 0 waren, 3 Stämme auf Serum je 1—3 ++ bis ++++, 1 Stamm aber 1—6 +; ein anderer Stamm dagegen, der von Agar 3—6 +++ war, gab von Serum aus nach 1 Std. 0, nach 3 Std. die Reihe: +++ — — —.

Einen Vergleich des Einflusses verschiedener Nährböden auf denselben Stamm gibt folgende

Tabelle 1:

Nährboden	alkal. Agar	alkal. Glycerin- Agar	saurer Glycerin- Agar	Trauben- zucker- Agar	Serum	Glycerin- Serum	Endo	Drigalski
Coli 386	0	0	0	0	++ (1 und 2)	+	0	+
Ty „St“	++	+	+	+	++ (1 und 2)	0	0	++ (3—6)

Bei Züchtung auf stark alkalischem Nährboden (Agar) verlieren nach allen unseren Beobachtungen vorher gut SA.-fähige Stämme ihre SA.-Fähigkeit, und zwar spätestens in der 2. Generation.

Gerade die Frage der Beeinflussung der SA. durch Besonderheiten des Nährbodens und der Züchtungsbedingungen erscheint uns weiterer im Gange befindlicher Untersuchungen wert, über die in Bälde an anderer Stelle berichtet werden wird.

Alles in allem treffen wir auf größte Variabilität der SA. und auf stärksten Einfluß des Nährbodens, und zwar bei einzelnen Stämmen, auch der gleichen Art, in ganz verschiedener Weise.

Für die SA. von Tuberkelbazillen wird von Beniasch<sup>5)</sup> angegeben, daß sie nur schwach ausfalle und es nicht gelinge, ein Opt. festzustellen. Das Fehlen eines ausgeprägten Opt. können wir bestätigen, jedoch sahen wir in breiten Zonen völlig ausgebildete, mit +++ zu bewertende SA. Küster stellte seine Aufschwemmungen in der Weise her, daß er die Bazillen im Mörser mit Aq. dest. verrieb, die Verreibung

1) a. a. O.

2) Klin. Jahrb. Bd. 26. S. 353.

3) a. a. O.

4) a. a. O.

5) a. a. O.

dann 1 Std. in der Kugelmühle behandelte und schließlich zur Entfernung der gröberen Bröckel noch 1 Min. zentrifugierte (elektrische Zentrifuge oder Wasserzentrifuge mit 1500 Umdrehungen in 1 Min.). Er ging meist von Serumkulturen aus, untersuchte jedoch nur eine beschränkte Zahl von Stämmen. Nach seinen mehr orientierenden Versuchen hatte es den Anschein, als ob sich bovine Tuberkelbazillen bei zwar gleichem Endergebnis mit den humanen, nämlich 3–5 ++++, dadurch von letzteren unterschieden, daß bei ihnen die A. in den Röhrchen 3 und 4 schon auffallend bald, nach etwa  $\frac{1}{2}$  Std., auftrat.

Bei den neuerdings in erweitertem Umfange vorgenommenen Untersuchungen haben wir, meist von Bouillonkulturen ausgehend, den 1 Std. zwischen Fließpapier getrockneten Bazillenbelag im Mörser sorgfältig mit dest. Wasser verrieben und dann die Verreibungen entweder durch Fließpapier filtriert — die so erzielten Suspensionen waren etwas weniger dicht — oder 3 Min. zentrifugiert und dann die überstehende immer noch reichlich dichte Suspension benutzt. Vergleichssuspensionen dienten zur Erzielung möglichst gleichmäßiger Dichte. Vergleichende Versuche am selben B.-Material mit den 3 verschiedenen Arten der Suspensionsherstellung lieferten übereinstimmende Befunde.

Wir haben mit 10 humanen und 3 bovinen Stämmen gearbeitet und außerdem auch 5 verschiedene Friedmann-(Schildkrötentb.)-Stämme, den „Chelonin“-stamm Piorkowskis, sowie sonstige saprophytische „Säurefeste“ herangezogen. Unsere neuen Ergebnisse waren so wenig gleichmäßig und lieferten so geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Klassen der „Säurefesten“ im weitesten Sinne, daß wir von einer genaueren Wiedergabe absehen wollen, zumal sich diese Befunde mit den von Schloßberger gestern vorgetragenen vollkommen decken. Es sei hier nur in Kürze erwähnt, daß sich die auf Bouillon gewachsenen B. von den von Serumkulturen entnommenen meist dadurch unterschieden, daß bei ihnen auch in Röhrchen 6 völlige A. eintrat, so daß auch bei den Säurefesten die schon erwähnte „Linksverschiebung“ durch Serumzüchtung in gewissem Sinne in die Erscheinung trat.

Kulturen auf saurem Glyzerin-Agar (Tb.-Agar) zeichneten sich allgemein durch schlechte SA.-Fähigkeit aus. Desgleichen wiesen verschiedene über 3 Monate alte Bouillonkulturen eine deutliche Herabsetzung der SA.-Fähigkeit auf, was vielleicht mit der zunehmenden Verfettung zusammenhängt.

Im Ganzen sind auch die an den „Säurefesten“ gewonnenen Ergebnisse als wenig befriedigend und eine praktische Verwertung ausschließend zu bezeichnen.

Versuche über die Abwaschbarkeit der SA.-Fähigkeit. Schon Küster konnte die Feststellung machen, daß die SA.-Fähigkeit mit dest. Wasser abwaschbar ist<sup>1)</sup>. Schwemmt man die B. in dest. Wasser auf, läßt die Aufschwemmung einige Zeit stehen, zentrifugiert scharf und stellt aus dem Bakterienbodensatz eine neue Aufschwemmung in dest. Wasser her, so zeigte sich bei einer Reihe von gut SA.-fähigen Stämmen völliger Verlust der Ausfällbarkeit. Aber auch bei diesem Vorgehen traten in einzelnen Fällen Besonderheiten auf, auf die im folgenden an Beispielen kurz eingegangen sei. So verlor Ty „Ka“ seine gute SA.-Fähigkeit nicht nur bei der eben beschriebenen

1) Anm. b. d. Korrektur. Auf die Abwaschbarkeit der SA. wird auch von Herzfeld u. Klinger (Weichardts Ergebn. Bd. 4. 1920. S. 289) hingewiesen.

Waschung in Aq. dest., sondern auch, wenn er in entsprechender Weise mit NaCl-Lösung gewaschen war, völlig. Ty „St“ dagegen zeigte völligen Verlust der SA.-Fähigkeit nur nach Waschung in dest. Wasser, während er in NaCl gewaschen sein Opt. unter geringer Linksverschiebung in 2 und 3 hatte.

Paraty. B „Breslau“ wies auf die Waschung hin nur einen geringen Unterschied hinsichtlich der Stärke der A. auf: von +++ zu ++ und +, dagegen gar keinen Rückgang, wenn in NaCl gewaschen. Bei Paraty. B „Schottm.“ ging die SA.-Fähigkeit auch durch 2maliges Waschen mit dest. Wasser nicht zurück. Vielleicht könnte man in dieser Resistenz gegen die Waschung einen Ausdruck für die erst heute nachmittag hier von anderer Seite hervorgehobene „Vitalität“ des Paraty. B erblicken.

X 19 „H“-Form zeigte nach „Wasserwaschung“ Abschwächung der SA. und Verschiebung nach links, mit NaCl gewaschen dieselbe Abschwächung, aber eine noch stärkere Verschiebung im gleichen Sinne.

Die SA. erwies sich auch bei Stämmen, die auf Serum oder Drygalski gewachsen waren, als abwaschbar.

Hierzu sei aber erwähnt, daß sich bei einem Ty.-Stamm die SA. nicht oder nur ganz schwach abwaschbar ergab, wenn der Stamm auf Agar, dagegen völlig abwaschbar, wenn er auf Drygalski gewachsen war.

Es wurde auch der Einfluß der Waschung auf die spezifische A. geprüft; dabei gelangten wir zu wechselnden Ergebnissen: einmal gar kein Absinken, beim gleichen Stamm (Ty „Ka“) aber bei einem 2. Versuch eine deutliche Herabsetzung des Titors.

Von neuerdings angestellten Versuchen seien folgende mitgeteilt: Wir wuschen den gut SA.-fähigen Ty-Stamm „St“ und den durch die Säuremischungen inagglutinablen Ty-Stamm „Schw“ mit Aq. dest. Beide Stämme neu in dest. Wasser aufgeschwemmt, ergaben SA. = 0, ebenso beide Waschwässer mit den Säuren versetzt, SA. = 0. Dann wurden beide Stämme kreuzweise in die Waschwässer in der zur SA. nötigen Menge verimpft und 24/37 stehen gelassen. Dann waren beide Stämme: SA. = 0. Ein entsprechender Versuch mit den Coli-Stämmen „386“ (SA. +++ ) und „Br“ (SA. = 0) ergab für beide Waschwässer und beide frisch aufgeschwemmte B.: SA. = 0. Nach kreuzweiser Verimpfung in die Waschwässer fand sich: „Br“ in Waschw. „386“ SA. = 0, dagegen im Widerspruch zum Befund an den Ty-Stämmen: „386“ in Waschw. „Br“ SA. = ++. Wiederholungen der beiden Versuche boten die gleichen Ergebnisse dar.

(Aus eigenem Waschw. wird die SA.-Fähigkeit nicht wieder aufgenommen.)

Abgesehen von der vielleicht nicht uninteressanten Tatsache, daß die SA. in vielen Fällen abwaschbar ist, läßt sich für die mannigfachen Einzelbeobachtungen kaum eine allgemeine Erklärung finden. Jedenfalls beweisen auch die Abwaschversuche, ein wie scharfes Reagens auf feine, für uns bis jetzt nur schwer faßbare biologische Verhältnisse und Vorgänge die SA. ist. Am Schlusse werden wir nochmals auf die Ergebnisse der Waschversuche zurückkommen.

Besonders bemerkenswert erscheint es uns, daß wir (Versuche von K.) die von der spezifischen Agglutination her bekannte Paragglutination auch für die SA. nachweisen konnten. Die Technik besteht darin, daß Bouillonkulturen von gut SA.-fähigen Stämmen nach verschiedenen langer Bebrütung — meist 1, aber auch 3 und 8 Tage — durch 1-stünd. Erwärmen auf 60° abgetötet werden und die Kölbchen dann mit

SA.-negativen B. beimpft werden. Nach 1, 2 usw. Tagen oder auch erstmalig erst nach 8 Tagen werden aus diesen „Pfropfkulturen“ Abimpfungen auf Agar gemacht, mit denen dann nach 24/37 die SA. angestellt wird. Einige Male wurden auch mehrere „Generationen“ oder Passagen dieser Agarkulturen auf die SA. geprüft, um die Haltbarkeit der neu gewonnenen Eigenschaft zu verfolgen. Auch eine Umkehrung, SA.-fähiger Stamm auf abgetötete Kultur eines SA.-negativen Stammes verimpft, wurde einige Male versucht. Wir bedauern sehr, infolge Raum-mangels nur 3 Beispiele bringen zu können (s. Tab. 2).

Außer den in Tab. 2 angeführten Beispielen wurden SA.-neg. Typhus-Stämme SA.-pos. durch Kontakt mit SA.-pos. Coli, Milzbrand und Paraty. B, SA.-neg. Coli-Stämme durch SA.-pos. Ty. und Coli. Dagegen blieb ein SA.-neg. Paraty. B. auf SA.-pos. Ty. SA.-neg. Ein Shiga-Stamm nahm von SA.-pos. Ty. die Para-SA. nur andeutungsweise auf. Die Anzüchtung der SA.-Fähigkeit gelang auch nicht mit jedem Stamme unter den oben angeführten Kombinationen.

Man konnte so Stämme unterscheiden, die sie schlecht annehmen, wie Coli „T“, Coli „Neu“ oder Ty. „M“, von solchen, die sie gut aufnehmen, wie Coli „88“. Andererseits geben einige Stämme schlechter ab, wie Ty „R“, andere dagegen sehr stark, wie Paraty. B „Schottm.“ Auch hier könnte man an eine besondere Vitalität des Paraty. B denken.

Wurden die Vorkulturen der SA.-pos. Stämme anstatt nach 24 Std. erst nach 8 Tagen abgetötet, so gaben sie stets schlechter ab.

Die Säureparagglutination hielt sich bei den meisten Stämmen bis zur 5., bei einigen sogar bis zur 9. Generation. Bemerkenswert ist, daß eine mittels 1 Tag alten SA.-pos. Milzbrandkultur auf SA.-neg. Ty. „M“ übertragene und in der 1. Generation sehr stark ausgeprägte Para-SA. schon in der 2. Generation fast völlig verschwunden war, während sich eine mittels einer 8 Tage alten Milzbrandkultur übertragene Para-SA., die in der 1. Generation nur wenig schwächer als die eben beschriebene war, noch bis zur 4. Generation, wenn auch stark abgeschwächt, hielt. (Abimpfung der 1. Generation in beiden Fällen nach 8 Tagen.)

Die wenigen angestellten Umkehrungsversuche ergaben, daß der SA.-pos. Paraty. B „Schottm.“ in SA.-neg. Coli negativ wird — was im Hinblick auf die bei ihm beobachtete starke Resistenz gegen Abwaschung besonders auffallend ist, während ein SA.-pos. Coli „Häm“ auf SA.-neg. Coli „88“, auf 1 Tag alte Kultur überimpft, die SA.-Fähigkeit behält und auch, auf 8 Tage alte Kultur gebracht, sie nur in geringem Grade verliert.

Die Para-SA. hat sich ebenso wie die originale als abwaschbar erwiesen.

Es sei hervorgehoben, daß nach unseren mehrfachen Beobachtungen die Paragglutination gegenüber der SA. früher auftritt, als diejenige gegenüber spezifischem Serum. In Verwertung dieser Erscheinung angestellte Versuche, paragglutinable Bakterien in Kranken- und Rekonvaleszentenstühlen nachzuweisen (Fließpapierfiltrate von Stuhlverreibungen in NaCl ausgeschleudert und Bodensatz in dest. Wasser aufgenommen und der SA. unterworfen) haben, bis jetzt wenigstens, nicht zu brauchbaren Ergebnissen geführt.

Von den an Zahl allerdings sehr geringen Versuchen über den Einfluß der Erhitzung auf die SA. sei nur mitgeteilt, daß Kochen der

Tabelle 2.

Ty. „M“ (—) auf Ty. „R“ (+) (nach 24 Std. abgetötet) aufgeimpft				Coli „88“ (—) auf Paraty. B „Schottmüller“ (+) (nach 24 Std. abgetötet) aufgeimpft				Ty. „M“ (—) auf Chol. „F“ (+) (nach 24 Std. abgetötet) aufgeimpft			
Agar-kultur angelegt nach .. Tagen	Ergebnis der SA. nach 1 und nach 3 Std.			Agar-kultur angelegt nach .. Tagen	Ergebnis der SA. nach 1 und nach 3 Std.			Agar-kultur angelegt nach .. Tagen	Ergebnis der SA. nach 1 und nach 3 Std.		
1	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—
2	—	—	—	2	—	—	—	2	—	—	—
3	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—
4	—	—	—	5	—	—	—	4	—	—	—
5	—	—	—	6	—	—	—	6	—	—	—
7	—	—	—					7	—	—	—
38	—	—	—					32	—	—	—

**B.-Suspension vor dem Zusatz der Säuremischung verzögernd wirkt, Erwärmung oder Kochen nach dem Zusatz beschleunigend, doch wird durch diesen Eingriff ein bei regelrechtem Vorgehen neg. Ausfall nicht in einen pos. umgewandelt.**

Von besonderer Bedeutung scheinen folgende, erst jüngst von uns gemachte Beobachtungen zu sein:

Säureinagglutinable Stämme werden regelmäßig durch Verreibung im Mörser säureagglutinabel. Die gemörserten und hierauf in dest. Wasser aufgeschwemmten B. zeigen dann meist Reihen, die zwischen den Extremen: — — — + ++ ++ und + +++ +++++ +++++ +++++ liegen.

Auch durch Waschung SA.-neg. gewordene B. eines ursprünglich SA.-pos. Stammes Coli „386“ wurden nach Mörserung pos. Sie gaben die Reihen: 1 Std. — — — — —, 3 Std. —  $\perp$   $\perp$   $\perp$   $\perp$   $\perp$ .

Zunächst gemörserte und dann gewaschene B. des gleichen Stammes waren ebenfalls nach 1 Std. völlig neg., ergaben aber nach 3 Std. die Reihe  $\perp + + + + + + + + + + + +$ . Die Abwaschung versagte also, nur eine Verzögerung in der Ausfällung trat ein.

Das nach 2 Tage langem Zentrifugieren gewonnene Waschwasser von gemörsertem Coli „386“ gab nach Zusatz der Säuremischungen die Fällungsreihe: L L L + + +. Wurde Coli „386“ gemörsert, zentrifugiert, dann wieder in Waschwasser aufgeschwemmt und dann durch Berkefeldkerze filtriert, so ergab das klare Filtrat folgende Säurefällungsreihen: 1 Std. — — — tr tr tr (tr = Trübung), 3 Std. — — — tr + + + + + + + + +.

Waschwasser von ungemörsertem Coli „386“ war bei gleicher Behandlung stets negativ.

Gewaschene und dann gemörserte B. des SA.-neg. Coli „Br“ ergaben die Reihen: 1 Std. — — — — —, 3 Std. — — — — —  $\perp$  +. Zunächst gemörserte und dann gewaschene B. des gleichen Stammes lieferten das Bild: 1 Std. — — — — —, 3 Std. — —  $\perp$  + ++ + + +.

Das Waschwasser des gemörsterten Coli „Br“ gab die gleiche Reihe, wie das entsprechende bei Coli „386“, ebenso wie das der ungemörsterten Bakterien wie bei dem obigen Versuch stets neg. war.

Auf diese neuen Feststellungen sei hier nur insoweit eingegangen, als sie uns geeignet erscheinen, auf einige Einzelheiten in dem so ungeheuer vielgestaltigen und anscheinend widerspruchsvollen Bilde der SA. vielleicht ein erklärendes Licht zu werfen.

Die SA. ist in erster Linie als eine durch die H-Ionen bedingte und damit auch durch die Gegenwart von Salzen beeinflusste Fällung von Eiweißkörpern aufzufassen, also im Grunde eine Eiweißreaktion.

Für nicht SA-fähige B. könnte man annehmen, daß der nötige Kontakt zwischen dem elektropositiven H-Ion und den mit dem Eiweiß fest verbundenen negativen Ionen behindert ist, und man wird hier sofort an die Funktion einer mehr weniger lipoidreichen abschließenden Membran denken. Für original SA-positive B. könnte man sich vorstellen, daß sie entweder eine lipoidarme, nicht störende Membran besitzen, oder daß sie in (und auf!) ihrer Membran genügend Eiweißstoffe lagern haben. Derartige auflagernde Eiweißstoffe sind durch Waschen mit dest. Wasser oder Kochsalzlösung entferntbar.

Das eiweißreiche Endoplasma steht nur bei den begehrten Formen mit der Außenwelt des Bakteriums in Verbindung — eben durch die von ihm entspringenden und die Membran oder auch

Kapsel durchsetzenden Geißeln. Damit würde der oben erwähnte Zusammenhang zwischen SA. und Begeißelung ohne weiteres verständlich.

Das Endoplasma wird mechanisch aus dem Inneren befreit durch das Mörsern. Daher die stark positiven Ausschläge gemörserter Bakterien.

Solche durch Mörserung freigelegte Eiweißtrümmer haften aber immer noch mehr oder weniger zusammen. Damit könnte man sich erklären, warum von gemörserten B. die SA.-Fähigkeit nicht abwaschbar ist.

Inwieweit bei den „Säurefesten“, die ja auch zwecks Herstellung der Suspension gemörsert werden müssen, die starke Fällung durch hierbei freiwerdende Inneneiweißkörper verursacht wird, möge dahingestellt bleiben.

Reagierendes Inneneiweiß könnte aber auch auf andere Weise an die Außenfläche des B. gelangen. Man könnte sich die Tatsache, warum die SA. nur bei Aufschwemmung in dest. Wasser gelingt, vielleicht auch so erklären, daß sich bei den original SA.-pos. Stämmen Vorgänge, die an die bekannte „Plasmoptyse“ A. Fischers erinnern, als Folge des Uebergangs in das salzarme, stark hypotonische Medium einstellen. Diese Annahme gäbe auch eine Erklärung dafür, warum SA.-pos. Stämme nach Waschung SA.-neg. werden. Durch die Waschung wird eben das ausgetretene Eiweiß weggespült und, kommen dann die Bakterien in neues dest. Wasser, so ist keine Veranlassung mehr zu erneutem Austritt von Inneneiweiß gegeben. Als Stütze für eine derartige Annahme könnten diejenigen Fälle betrachtet werden, bei denen zwar nicht durch NaCl-Lösung, wohl aber durch Aqu. dest. eine Waschung möglich ist.

Schließlich wäre, aber nur für begeißelte Bakterien, daran zu denken, daß durch das Waschen eine Entfernung (Auflösung?) der Geißeln stattfindet. Hierüber werden weitere, im Gange befindliche Versuche über die mikroskopische Verfolgung des SA.-Vorganges Aufklärung bringen.

Den Erwerb der Para-SA. könnte man sich durch Beladung mit Eiweißstoffen der Vorkulturbakterien erklären; die Tatsache der Vererbbarkeit jedoch stößt bis jetzt noch auf große Erklärungsschwierigkeiten.

Man muß auch, in Analogie mit Erfahrungen auf anderen Gebieten, immerhin mit der Möglichkeit, um nicht zu sagen Wahrscheinlichkeit, rechnen, daß der äußerlich ganz gleichartig erscheinende Vorgang der SA. nicht bei allen Bakterienarten auf der gleichen Ursache beruht, sondern daß sich bei tieferem Eindringen ein Zusammenwirken von Fall zu Fall verschiedener Faktoren herausstellen kann.

Ueberhaupt sind wir uns dessen wohl bewußt, daß wir, trotz der großen Zahl von Einzelbeobachtungen nur mehr oder minder Lückenhaftes und einer Erklärung noch Unzugängliches bringen konnten. Wir möchten auch unsere Erklärungsversuche nur als Anregungen zu weiteren Prüfungen betrachtet wissen.

Das Gesamtergebnis unserer Untersuchungen fassen wir in die Sätze zusammen:

1) Die Säureagglutination ist zu differentialdiagnostischen Zwecken so gut wie nicht verwertbar, da die ihr Wesen ausmachende Eiweißfällung von allen den uns zum Teil unfaßbaren Faktoren abhängig ist.

die auf das Bakterieneiweiß einwirken können oder selbst schon früher eingewirkt haben (Vererbung).

2) Die SA. ist aber gerade deshalb theoretisch von großem Interesse, da sie nach unserer Auffassung Einblick in feine biologische Einrichtungen und Vorgänge bei den Bakterien gestattet und weitere Aufschlüsse auf diesem Gebiete verspricht.

## 25. Vortrag. Uhlenhuth und Zuelzer:

### **Zur Epidemiologie der Weilschen Krankheit — zugleich ein Beitrag zur Frage der frellebenden Spirochäten (Icterogenes-ähnliche und andere)<sup>1)</sup>.**

(Mit Projektionen s. S. 166 u. 167).

Die Figurenhinweise beziehen sich auf die zugehörige Tafel am Schluß des 26. Vortrages.

Das Wesen und die Ursache der Weilschen Krankheit sind durch die Forschungen, die während des Weltkrieges ausgeführt wurden, restlos aufgeklärt worden<sup>2)</sup>. Auch bezüglich ihrer Epidemiologie sind im Felde wertvolle Beobachtungen gemacht worden. Doch ist hier noch manches unklar. Schon aus der älteren Literatur — noch vor der Entdeckung des Erregers — war besonders durch die ausgezeichneten epidemiologischen Studien von v. Hecker und Otto bekannt, daß Uebertragungen von Mensch zu Mensch in der Regel nicht beobachtet wurden.

Alles deutete auf eine außerhalb des Menschen gelegene Infektionsquelle hin.

Immer wird hervorgehoben, daß die Infektionsquelle einen streng lokalen Charakter habe, fast regelmäßig sind es dieselben Garnisonen, die befallen sind, und hier wird fast immer das Baden in verunreinigten Flußläufen als Ursache der Erkrankungen angegeben, die sofort aufhörten, sobald ein Badeverbot erlassen war.

Auch sonst werden die Anhäufung von Fäulnisstoffen, ungenügend verscharrte Kadaver, stagnierende Wässer, Wallgräben, nicht kanalisierte Stadtteile als Infektionsquellen beschuldigt, man sprach direkt von einem „Sumpfmiasma“, das sich aus der Zersetzung organischer Stoffe entwickle (Helfer).

In Japan waren es die feuchten Kohlengruben, die als Infektionsquellen angeschuldigt wurden, außerhalb dieser kamen Erkrankungen nicht vor.

Auch im Felde konnte mit großer Regelmäßigkeit festgestellt werden, daß die Krankheit an den Oertlichkeiten haftet, die durch Wasser,

1) Vorgetragen von Uhlenhuth.

2) Uhlenhuth und Fromme, Experimentelle Untersuchungen über die sog. Weilsche Krankheit. (Med. Klin. 1915. Nr. 44, 46, 47, 50.) — Dies., Zur Aetiologie der Weilschen Krankheit. (Berlin. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 11.) — Dies., Untersuchungen über die Aetiologie, Immunität und spezifische Behandlung der Weilschen Krankheit. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1916. Bd. 25. Heft 4–6.) — Dies., Experimentelle Untersuchungen über den Infektionsmodus, die Epidemiologie und Serumbehandlung der Weilschen Krankheit. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1919. Bd. 28. Heft 1–2.) — Hübener u. Reiter, s. Deutsch. med. Wochenschr. 1915. 43. 1016. 1 u. 5; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81; Arbeiten der Japaner s. Journ. of exp. med. 1916.



Sumpfreichtum und feuchtes Erdreich ausgezeichnet waren. Die Fälle, an denen wir (Uhlenhuth und Fromme) im Sommer 1915 unsere ersten Untersuchungen vornahmen, stammten aus der sumpfreichen Aisneniederung in Nordfrankreich, wo auch die Gräben und Unterstände zum Teil sehr feucht waren (s. auch Trautmann).

Diese auffallend häufigen Beziehungen zum Wasser, unter Berücksichtigung der meist im Hochsommer auftretenden Badeepidemien, wie sie eine solche z. B. in Hildesheim beobachteten, führten bereits v. Hecker und Otto zu der Ueberzeugung, daß die Weilsche Krankheit, ebenso wie die Malaria oder das Pappataciefieber, durch Mücken oder andere fliegenden Insekten übertragen werde.

Diese „Insektentheorie“ hat etwas Bestechendes, und auch wir haben im Anfang — ebenso wie andere Autoren — eine solche Uebertragung für sehr wahrscheinlich gehalten. Auch im Experiment gelang uns eine — wenn auch nur rein mechanische Uebertragung durch Stechfliegen (Uhlenhuth und Kuhn)<sup>1)</sup>.

Indessen sprechen die von uns beobachteten Winterepidemien und die Erkrankungen in den Kohlengruben Japans dagegen. Auf Einzelheiten möchte ich hier nicht eingehen. So viel steht jedoch fest, daß stechende Insekten, wenn sie überhaupt in Frage kommen, sicher nicht ausschließlich die Infektion vermitteln.

Uhlenhuth und Fromme haben nun schon bei ihren ersten Untersuchungen im Felde die Frage erörtert, ob nicht die Ratten als Ueberträger der Seuche in Betracht kommen könnten. Die ungeheure Rattenplage, unter der unsere Truppen während des langen Stellungskrieges in den Unterständen und in den Schützengräben zu leiden hatten, forderte zu dieser Annahme geradezu heraus. Da aber tote und auch kranke Ratten an der Front nicht aufgefunden werden konnten, und die ad hoc in ihren Feldlaboratorien angestellten künstlichen Infektionsversuche an wilden Ratten sämtlich negativ ausfielen, konnten damals tatsächliche Beweise für diese Annahme nicht erbracht werden. Im Jahre 1916 haben nun die Japaner (Miyajima u. a.) die wichtige Tatsache festgestellt, daß in der Stadt und in den Kohlengruben von Kyuschu, wo unter den Arbeitern ansteckende Gelbsucht häufig beobachtet wurde, 39,5 Proz. (von 86) der dort gefangenen anscheinend ganz gesunden Ratten mit hochvirulenten Spirochäten der Weilschen Krankheit infiziert waren, die sie durch die Nieren mit dem Urin ausschieden.

Fromme und Uhlenhuth konnten bald darauf auch im Felde bei 1 Ratte aus einem Unterstand der vorderen Linie, in dem ein Mann an Weilscher Krankheit erkrankt war, sowie bei 1 Sielratte in Straßburg, wo Weil-Erkrankungen nicht vorgekommen waren, diese Befunde bestätigen. Uhlenhuth und Zuelzer<sup>2)</sup> haben dann neuerdings festgestellt, daß 10 Proz. der Berliner Ratten mit der *Spirochaete icterogenes* infiziert sind. Und ähnliche Befunde sind bei den Ratten an den verschiedensten Stellen der Welt erhoben worden.

Wenn man nun auch, wie wir noch sehen werden, mit Hilfe der „Rattentheorie“ die Verbreitung der Weilschen Krankheit wohl er-

1) Uhlenhuth u. Kuhn, Experimentelle Uebertragung der Weilschen Krankheit durch die Stechfliege (*Stomoxys calcitrans*). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1917.)

2) Uhlenhuth u. Zuelzer, Ueber das Vorkommen des Erregers der ansteckenden Gelbsucht (*Sp. icterogenes*) bei frei lebenden Berliner Ratten. (Med. Klin. 1919. Nr. 51.)

klären kann, so machen doch die oben erwähnten Badeepidemien gewisse Schwierigkeiten. Man müßte da eben annehmen, daß das Wasser durch Rattenurin verseucht sei, was sehr wohl möglich ist, da ja die Ratten sich mit Vorliebe am Wasser aufhalten.

Das Wasser der Innerste bei Hildesheim erhielt z. B. — worauf v. Hecker und Otto hinweisen — oberhalb der Badeanstalt auch verunreinigende Zuflüsse durch einen Graben, der mit einer Abdeckerei in Verbindung stand. Hier waren wohl sicher zahlreiche Ratten. Und so wird es vielleicht auch anderswo gewesen sein.

Es war aber immerhin auch die Frage aufzuwerfen, ob nicht auch vielleicht primär und zunächst saprophytisch die *Sp. icterogenes* in verunreinigten Wässern vorkommt und von hier aus erst die Infektion der Ratten und Menschen ausgeht.

Mit dieser Frage haben wir uns nun eingehend beschäftigt, und es gelang uns in der Tat, den Nachweis zu erbringen, daß *Spirochäten* vom *Icterogenes*-Typus in ziemlicher Verbreitung im Wasser vorkommen (Fig. 3—15).

Wir fanden sie an den verschiedensten Stellen in Wässern der verschiedensten Provenienz und chemischen Zusammensetzung. So konnten wir sie nachweisen im Uferschlamm des Wannsees, im Schlachtensee, der Krummen Lanke, auch in der Nähe der Badeanstalten. Wir fanden sie in dem, an welken Blättern reichen natürlichen Teich auf dem Gelände des Gesundheitsamts in Dahlem, in einem in gedüngtem Acker liegenden Tümpel, ferner in der biologischen Kläranlage in Stahnsdorf, und zwar im Vorreinigungsbecken, im Tropfkörper und Nachreinigungsbecken, ferner im Ausfluß der Abwässer in den Teltowkanal an der Machnower Schleuse, sowie auch im Teltowkanal selbst, ca. 1000 m von dem Ausfluß entfernt, in der Richtung nach dem Wannsee. Auch im Darminhalt eines auf der Kläranlage gefangenen Frosches wurden sie gefunden.

Ferner fanden wir sie in einem Vorreinigungsbecken der Rieselfeldanlage in Ostdorf.

Von ganz besonderem Interesse war ihr Nachweis in der stark salzhaltigen Soolquelle von Artern, die nach der Analyse der Landesanstalt für Wasserhygiene einen Salzgehalt hat von 4,5 Proz., d. h. 1 Proz. mehr als der Atlant. Ozean, und eine Härte von 273 d. G. Sie enthält fast keine organischen Substanzen, wohl aber freien  $H_2S$ .

Zuelzer hatte das Wasser dieser Quellen schon früher einmal zum Gegenstand anderweitiger Untersuchungen gemacht und seinerzeit andere freilebende *Spirochäten* darin nachgewiesen. Auch in Gläsern, die mit diesem Wasser gefüllt, seit mehreren Jahren im Laboratorium aufbewahrt waren, konnten jetzt reichliche Mengen, zum Teil in Teilung begriffene *Icterogenes*-ähnliche *Spirochäten* nachgewiesen werden.

Ferner wurden in einer Schwefelquelle bei Hannover diese *Spirochäten* — wenn auch in geringerer Anzahl — von uns nachgewiesen. Geradezu überraschend war nun der Befund der *Spirochäten* an den Öffnungen der Wasserhähne und Wasserschläuche in verschiedenen Laboratorien des Gesundheitsamtes. Bekanntlich bilden sich hier, zumal wenn sie nicht regelmäßig benutzt werden, schleimartige Pilzgeflechte. In diesem „organischen Filz“ fanden sich die *Icterogenes*-ähnlichen *Spirochäten* in großen Massen — bisweilen fast in Reinkultur — meist vergesellschaftet mit zahlreichen anderen Mikro-

organismen. Es wurden z. B. Ziliaten und Flagellaten gefunden. Auch Nematoden und säurefeste Stäbchen, sowie andere Wasserbakterien und verschiedenartige andere Spirochäten (*Recurrentstyp* etc.) wurden nachgewiesen (s. Fig. 19—29).

Das Wasser unserer Leitung entstammt Tiefbrunnen aus unmittelbarer Nähe des Wannsees, in dem wir ja auch die Spirochäten nachgewiesen haben (siehe oben). Es geht dann durch eine Enteisungsanlage.

Jedenfalls stammen die Spirochäten wohl aus dem Ursprungsgebiete des Wassers und siedeln sich dann in den Pilzgeflechten der Wasserhähne an. Auch in den Wasserhähnen der Berliner Anatomie konnten wir diese Spirochäten nachweisen.

In sehr stark verunreinigten, stinkenden Abwässern, wo die Fäulnis noch nicht zu einem gewissen Abschluß gekommen ist, konnten wir die Spirochäten nicht nachweisen, so z. B. nicht in den frischen Abwässern der Kläranlage in Werben, der Pumpstation in Pankow, sowie in Straßen-Gullys. Es scheint sich also um sogenannte „Mesosaprobier“ (Kolkwitz) zu handeln. Dafür sprechen auch die an gleicher Stelle gefundenen Flagellaten, Ziliaten, *Spirillum undula*, *Thiothrix*, *Beggiatoa* u. a. Die Wässer, in denen wir diese Organismen gefunden haben, weisen darauf hin, daß vielleicht der  $H_2S$ -Gehalt eine wichtige Rolle spielt, wie Zuelzer das für andere freilebende Spirochäten, *Sp. plicatilis*, *stenostrepta* u. a. bereits früher nachgewiesen hat.

Wir haben es hier also mit sehr weit verbreiteten Mikroorganismen zu tun und es ist auffallend, daß man nicht schon früher auf sie aufmerksam wurde. Nur in der amerikanischen Literatur findet sich, wie wir nach Abschluß unserer Untersuchungen feststellten, eine kurze Mitteilung von Wolbach und Binger (*Journ. of exper. Research.* 1914. Vol. 30), die offenbar eine in diese Gruppe gehörige Spirochäte — die sie *Sp. biflexa* nennen — im Berkeley-Filtrat eines Teichwassers aus der Nähe von Boston, das sie zufällig längere Zeit hatten stehen lassen, beobachtet haben. Durch die Entdeckung der *Sp. icterogenes* durch Uhlenhuth und Fromme wurde ja dieser eigenartige charakteristische Formentypus erst bekannt, so daß ein planmäßiges Suchen nach diesen Gebilden erst möglich wurde. So hat E. Hoffmann neuerdings eine dieser Gruppe angehörige Spirochäte in der Mundhöhle des Menschen als *Spirochata trimerodonta* beschrieben (*Deutsche med. Wochenschr.* 1920), die vielleicht mit der im Wasser vorkommenden identisch ist und in der Mundhöhle unter ähnlichen äußeren Bedingungen wie in den Hähnen und Schläuchen der Wasserleitungen günstige Wachstumsbedingungen findet.

Daß man diese Spirochäten nicht schon früher gefunden hat, liegt unserer Ansicht nach daran, daß man die Wässer und Abwässer nicht systematisch im Dunkelfeld untersucht hat. Sonst hätte man sie — ebenso wie die anderen Spirochärentypen — nicht übersehen können. Allerdings sind sie oft nur spärlich und erst nach langem Suchen aufzufinden. Färberisch sind sie nicht so leicht darzustellen, zumal sie die Giemsa-Färbung auch nur schwer und erst nach längerer Zeit annehmen. Bessere Resultate gibt die Färbung nach Loeffler.

Was nun die Morphologie der Spirochäten betrifft, so ergibt sich folgendes:

Die Spirochäten, die wir *Sp. pseudoicterogenes* (*aquaticus*) bezeichnen wollen, lassen sich im Dunkelfeld von den echten *Sp. icterogenes* im allgemeinen nicht unterscheiden. Wir sehen die typischen Kleiderbügelformen, die feinen primären Windungen, die lebhaft charakteristische Rotationsbewegung des ziemlich starren Mittelstücks und die quirlartige Bewegung des Endstücks, das geradlinige Vorwärtsschwimmen genau wie bei den *Sp. icterogenes*. Auch in Giemsa-Präparaten sieht man keine markanten Unterschiede (Fig. 12 bis 15).

Neben diesen typischen Formen sieht man zum Teil dickere, loser gewundene, andererseits auch wieder sehr kleine, feine, äußerst zarte Formen. Auch sind die Enden bei manchen nicht so scharf gelenkartig abgesetzt, sondern mehr halbkreisförmig abgebogen, bei denen auch die primären Windungen bis ans Ende gehen. Solche etwas atypische Formen kommen aber auch bei der echten *Spir. icterogenes* vor und es erscheint daher fraglich, ob wir es mit einer besonderen Spezies zu tun haben (Fig. 5—11).

In diesem Zusammenhang konnten wir feststellen, daß außer der *Sp. pseudoicterogenes* noch eine ganze Reihe anderer, offenbar noch nicht beschriebener Spirochäten in den verschiedenen Wässern vorkommen. Die Wässer sind wahre Fundgruben der verschiedensten Spirochätenformen. Hier wollen wir zunächst feststellen, daß wir Spirochäten vom *Recurrentis*-, *Buccalis*-, *Refringens*-, *Pallida*-Typ und alle möglichen Uebergänge gefunden haben.

Auch im Darminhalt von Fröschen und Meerschweinchen, die bei dieser Gelegenheit untersucht wurden, fanden sich hauptsächlich *recurrentis*-ähnliche Formen oft in großer Zahl. Fräulein Dr. Zuelzer wird noch näher auf diese von uns gefundenen Spirochäten eingehen. (Es folgt Demonstration von Diapositiven aller dieser Formen, s. Tafel, Fig. 19—23.)

Kehren wir zu der *Pseudoicterogenes* zurück, so ist sie auch für einen Kenner im Dunkelfeld und gefärbten Präparat von den *Icterogenes* nicht sicher zu unterscheiden. Wären sie mit der *Spir. icterogenes* identisch, so wären die Badeepidemien und die übereinstimmend angegebenen Beziehungen zum Wasser wohl aufgeklärt; unklar wäre aber dann noch mehr wie jetzt, weshalb die Weilsche Krankheit so selten ist; es müßte dann ja, sollte man meinen, die Weilsche Krankheit — man denke nur an die Wasserleitungshähne — eine außerordentliche Verbreitung haben.

Nun ist aber die morphologische Uebereinstimmung natürlich nicht geeignet, die Identität zu beweisen. Man denke an die choleraähnlichen Wasservibrionen und die den Tuberkelbazillen so ähnlichen säurefesten Stäbchen. Alle pathogenen Mikroorganismen haben ja ihre harmlosen saprophytischen Vettern oder Geschwister. Vom epidemiologischen Standpunkt aus schien es uns nun aber doch interessant genug, in die event. verwandtschaftlichen Beziehungen dieser Mikroorganismen durch ad hoc angestellte Versuche einen Einblick zu tun und ihre Lebensweise zu studieren, um festzustellen, wie sich beide Typen den Einflüssen der Außenwelt und dem Tierkörper gegenüber verhalten.

In früheren Untersuchungen haben Uhlenhuth und Fromme.

gezeigt, daß die *Spir. icterogenes* gegen äußere Einflüsse (Eintrocknen, Sonnenlicht, Fäulnis, höhere Temperaturen, Desinfektionsmittel) recht empfindlich ist, daß sie sich aber im Virussol, in sterilem Leitungswasser längere Zeit (16 Tage) lebenskräftig hält.

Auf Grund dieser Beobachtungen haben wir (Uhlenhuth<sup>1)</sup>) versucht, die *Spir. icterogenes* im Leitungswasser mit geringem Serumzusatz (1:30) zu züchten. Diese Methode der „Wasserkultur“ hat sich ausgezeichnet bewährt. Wird sie nicht — wie gewöhnlich wöchentlich 1—2mal — weitergeimpft, so hält sich die „Wasserkultur“ 4—6—8—12 Wochen lebenskräftig. Allerdings muß eine bakterielle Verunreinigung der Reinkultur sorgfältig vermieden werden, sonst werden die Spirochäten überwuchert. Trotzdem haben wir eine Kultur, die unter anaëroben Bedingungen 47 Tage bei Zimmertemperatur gestanden und in den letzten 24 Tagen sogar bakteriell verunreinigt war und zu Beginn des Versuchs 2½ Std. bei —18° eingefroren und wieder aufgetaut war, noch gut beweglich befunden. Das sind Verhältnisse, wie sie in der Außenwelt angetroffen werden. So haben wir auch die *Sp. icterogenes* in sterilem Leitungswasser, dem etwas mooriger Schlamm zugesetzt war, über 8 Wochen in lebensfähigem Zustande beobachten können. Es kommt aber sehr auf die Zusammensetzung des Wassers an, häufig sterben sie nach Zusatz zu solchem natürlichen Schlammwasser schon am nächsten Tage ab, auch verlieren sie sehr schnell ihre Virulenz, wie das nach längeren Passagen aber auch in der Kultur der Fall ist. In solch avirulentem Zustande ist die *Spir. icterogenes* dann von der normalerweise im Wasser vorkommenden Form erst recht nicht mehr zu unterscheiden.

Auch die für die Züchtung im allgemeinen angewendete Temperatur von 30—35° ist für das Gedeihen der *Spir. icterogenes* durchaus nicht erforderlich; sie gedeiht nach unseren Untersuchungen sehr gut bei Zimmertemperatur, wie das auch die Versuche mit dem Schlammwasser, das bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stand, beweisen.

Wir stellen unsere Kulturen nicht mehr in, sondern auf den Brutschrank. Wir haben früher festgestellt, daß die *Spir. icterogenes* bei 50—55° in ½ Std. zugrunde geht, Temperaturen, die im Sommer auf dem Boden häufig erreicht werden, so daß sie unter diesen Verhältnissen (auch Sonnenlicht!) schnell in der Außenwelt abgetötet werden, während sie Kälte, selbst Einfrieren in Kältemischungen bei —18° gut vertragen (Uhlenhuth und Fromme<sup>2)</sup>). Die bisher angenommene strenge Anaërobië ist ebenfalls für das Gedeihen der *Spir. icterogenes* nicht erforderlich. In der Natur ist ja bisweilen im Schlamm der Gewässer event. durch Mitwirkung anderer Mikroorganismen ein nahezu anaërober Zustand vorhanden. In der Kultur haben wir auf anaërobe Bedingungen in letzter Zeit ganz verzichtet. Die Kulturen wuchsen auch ohne Paraffinabschluß ganz ausgezeichnet.

In Kulturröhrchen, durch die wir 2 Std. lang reinen Sauerstoff

1) Uhlenhuth, Zur Kultur d. „*Sp. icterogenes*“. (Deutsch. med. Zeitschr. 1917. S. 1552.)

2) Auch *Sp. pseudicterogenes* ist gegen gelegentliches Einrieren sehr widerstandsfähig. Erst bei öfters wiederholtem Einfrieren bei —15° C gehen sowohl *Ictero-* genes- wie *Pseudicterogenes*-Kulturen zugrunde.

durchgeleitet hatten, waren die Spirochäten noch vollkommen beweglich, ebenso in einer  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ -, H- und N-Atmosphäre.

In sauren Wässern, z. B. Moorwasser, oder sterilisiertem Heuinfus (sauer), wuchs die Spirochäte nicht. Die Reaktion muß neutral oder leicht alkalisch sein.

Ad hoc angestellte Versuche mit den für diesen Zweck so ausgezeichnet geeigneten Kulturspirochäten im hängenden Tropfen (Dunkelfeld) haben ergeben, daß HCl noch in einer Verdünnung von 1:1000 (d. h. 1 Tropfen Kultur + 1 Tropfen dieser HCl-Verdünnung) die Spirochäten in 10—15 Min. vollkommen unbeweglich macht und allmählich vollständig auflöst. Es stimmt das mit unseren früheren Feststellungen überein, nach denen 1 Proz. HCl zu Virusblut zu gleichen Teilen zugesetzt, die Spirochäten nach 10 Min., und normaler menschlicher Magensaft nach 30 Min. abtötet, so daß der Mensch dadurch auch einen ziemlich bedeutsamen Schutz gegen die Aufnahme des Virus vom Magen aus besitzt.

Ähnlich wirken andere Säuren, Essig- (1:1000), Weinsäure etc. Auch die Galle hat, wie wir früher feststellten, eine stark abtötende Wirkung, wie wir neuerdings wieder mit Kulturspirochäten bei Zusatz von Kaninchen- und Meerschweinchengalle (auch Weil-kranker Meerschweinchen) feststellen konnten, so daß hier sicher eine starke Abtötung der Spirochäten im Körper stattfindet.

Epidemiologisch besonders interessant war nun die Beobachtung, daß frisch gelassener, stark saurer Urin von Mensch und Ratte die Spir. icterogenes sehr stark schädigt.

Mischt man 1 Tropfen Spirochätenkultur mit 1 Tropfen solchen Urins und betrachtet das Gemisch im Dunkelfeld, so sieht man schon sofort oder nach einigen Minuten, daß die Spirochäten ihre Bewegung einstellen, starr werden und zusammenschrumpfen. Auch in alkalischem Urin (Meerschweinchen, Kaninchen) tritt eine gewisse Schädigung ein, aber erst nach einer viel längeren Zeit. Wenn man das sieht, so hält man es gar nicht für möglich, daß solche Mischung noch infektiös sein kann.

Nun ist es fast ausschließlich der Urin, durch den die Spirochäten vom kranken Menschen und der Ratte aus ihren Ansiedlungsstätten, den Nieren, in die Außenwelt abgeschieden werden. Und dieser Urin reagiert beim Menschen und der Ratte meist sauer. Wenn also nicht eine Gewöhnung der Spirochäten an diese saure Reaktion eintritt oder auch die Kulturspirochäten sich nicht anders verhält — was ja nicht sehr wahrscheinlich ist — so müssen wir annehmen, daß die Spir. icterogenes schon bei ihrer Ausscheidung aus dem Körper zum mindesten stark geschädigt ist.

Wir haben allerdings in früheren Versuchen mit Fromme nachgewiesen, daß 0,5 ccm des alkalischen Urins eines Weil-kranken Meerschweinchens nach 24-stündigem Stehen im Reagenzglas bei Verimpfung auf Meerschweinchen noch virulentes Virus enthält. Allerdings erkrankte das Tier 3 Tage später als das mit dem frisch gelassenen Urin infizierte Tier; nach 3 Tage langem Stehen hatte es seine Virulenz verloren.

Neutral reagierender Urin vom Menschen, dem Virusblut zugesetzt war, hatte sich 2 Tage im Reagenzglas virulent erhalten. Nach 6 Tagen erzeugte der schon stark zersetzte Urin bei dem geimpften Meerschweinchen eine septische Infektion. Es handelte sich hier nicht

um sauern, sondern um neutralen resp. alkalischen Urin, auch entsprach die Versuchsanordnung nicht den natürlichen Verhältnissen; durch Zusatz des Virus wird ja auch die saure Reaktion des Urins abgestumpft.

Soviel scheint aber aus diesen Beobachtungen hervorzugehen, daß hier ein gewisser Selbstschutz der Natur vorliegt, indem der Körper die ausgeschiedenen Spirochäten durch die Säure seines Urins abtötet und damit die Infektionsgefahr möglichst aufzuheben bestrebt ist. Dazu kommt dann die in der Außenwelt schnell fortschreitende Fäulnis des Urins, die ebenfalls einen deletären Einfluß auf die *Spir. icterogenes* ausübt.

Experimentell ist nun von den Japanern nachgewiesen worden, daß der frische, spirochätenhaltige (Dunkelfeld) Urin von Weil-Kranken (und Rekonvaleszenten) nur in  $\frac{1}{3}$  der Fälle für Meerschweinchen virulent ist. Bei Ratten haben wir ähnliche Beobachtungen gemacht. (Rattenurine, die zahlreiche Spirochäten enthielten, machten die geimpften Meerschweinchen nicht immer krank.) Hier sind die Spirochäten unter natürlichen Verhältnissen der Säure des Urins mehr ausgesetzt. Obwohl der Weil-kranke Mensch mit dem Urin die *Spir. icterogenes* ausscheidet, sind doch selbst in den Lazaretten Infektionen beim Personal, das sicher nicht immer vorsichtig damit umgeht, nicht beobachtet worden. Und die Ratten scheiden nachweislich gar in 10 Proz. der Fälle lebende Spirochäten aus, und nicht nur bei uns, sondern auch in der ganzen Welt.

Man rechne sich aus, wieviel Parasitenträger da herumlaufen und die Erreger überallhin verbreiten.

Lägen die Verhältnisse hier so, wie z. B. bei Typhusbazillenträgern (Urin), so müßte die Weilsche Krankheit die allerverbreitetste Seuche sein. Nun sind aber die von den Ratten ausgeschiedenen Spirochäten längst nicht immer — wenigstens im Meerschweinchenversuch — virulent. Außerdem ist die *Sp. icterogenes* wie alle Spirochäten ein immerhin doch — gegenüber dem Typhusbazillus — äußerst labiles Gebilde, das gewissen Schädigungen der Außenwelt nicht widersteht.

Die saure Reaktion spielt wohl die Hauptrolle bei der abtötenden resp. abschwächenden Wirkung des Urins auf die Spirochäten. Entsprechend sehen wir auch in sauren Wässern die Spirochäten schnell zugrunde gehen (Heuinfus). Aber auch der alkalische Urin schädigt die Spirochäten. Wir beziehen das zum Teil auch auf den Salzgehalt des Urins, wenn allerdings starke Alkalien die Spirochäten auch zu schädigen imstande sind. 1 Proz. KOH löst die Spirochäten sofort auf.

Wir haben festgestellt, daß verdünnte NaCl-Lösungen (10, 5, 2,5, 1,25, 1 Proz.) auf die *Spirochata icterogenes* einen mehr oder weniger stark schädigenden Einfluß ausüben. Die Spirochäten wurden in kurzer Zeit starr und unbeweglich („Salzstarre“).

Mischungen von 1,0 ccm Virusblut mit 1,0 ccm 5- und 10-proz. NaCl-Lösung, die Meerschweinchen nach  $2\frac{1}{4}$ -ständigem Stehen eingespritzt wurden, zeigten gegenüber den Kontrollen eine gewisse Abschwächung ihrer Virulenz. Auch andere Salze wirkten in bestimmten Konzentrationen schädigend auf die *Spirochata icterogenes* ein, und zwar scheint die schädigende Wirkung mit osmotischen Vorgängen in engem Zusammenhang zu stehen, denn der Eintritt der Schädigung entsprach etwa den äquivalenten Lösungen von NaCl, Natr. sulfur, Natr. citr., Kal.

nitrat, Natr. bicarb., Normosal (Sächs. Serum-Werk). Bei ca.  $\frac{6}{10}$ — $\frac{7}{10}$  der „Normallösungen“ trat momentane Starre und Formveränderung ein, auch in den schwächeren Lösungen war bereits eine Schädigung nachzuweisen.

Dabei entsprach eine

$\frac{6}{10}$ Normal-NaCl-Lösung	= 3,48 Proz.
„ „ Natr. sulf.-Lösung	= 6,48 „
„ „ Natr. citr. „	= 9,9 „
„ „ Kal. nitr. „	= 6,06 „
„ „ Natr. bicarb. „	= 5,04 „
„ „ Kal. biphosph.-Lösung	= 8,4 „

Die Versuche, bei denen uns Herr Dr. H. Citron in dankenswerter Weise unterstützt hat, wurden in Röhrchen angesetzt, indem gleiche Teile einer Spirochäten-Wasserkultur mit gleichen Teilen der Salzlösungen vermischt wurden und nach bestimmten Zeiten eine Untersuchung im Dunkelfeld vorgenommen wurde.

Auch in Traubenzucker trat erst bei  $\frac{7}{10}$  „Normallösung“ eine momentane Bewegungshemmung ein. Erwähnt sei noch, daß Lösungen von 5-proz. KCl die Spirochäten nach 5 Minuten unbeweglich machten, bei 5 Proz. oxalsaurem Kali und 0,5 Proz. Natr. monophosphat (sauer) trat sofort Starre und Formveränderung auf — ebenso durch Aether, Formol und Chloroform, die in Dampfform auf Spirochäten einwirkten.

Die gleiche Wirkung wie NaCl hatte das stark salzhaltige Wasser der Solquellen von Artern, in der reichliche Mengen des Pseudoicterogenes vorhanden waren. Dieses Wasser, in dem sich die Pseudoicterogenes so wohl fühlten, schädigte die Sp. icterogenes der Kultur in 15 Minuten so sehr, daß sie starr und unbeweglich wurde.

Offenbar ist der Salzgehalt eines Wassers für das Gedeihen der echten Sp. ict. von großer Bedeutung.

Wenn man versucht, die Sp. icterogenes statt in Leitungswasser mit Serumzusatz („Wasserkultur“) in phys. NaCl-Lösung zu züchten, so geht die Kultur zwar an, läßt sich aber in Passagen nicht sicher weiterimpfen. Auch Ringersche Lösung ist für die Kultur nicht sehr geeignet.

Auch in Normosallösungen (Sächs. S.-Werke), die ganz physiologisch sein sollen, gelang die Fortzüchtung der Spirochäten nicht.

In 0,95 Proz. NaCl (mit Serumzusatz) gelang uns die Kultur überhaupt nicht. Vielleicht ist es aber möglich, die Sp. icterogenes durch besondere Versuchsanordnung langsam und allmählich an das NaCl zu gewöhnen.

Trauben-, Milch-, Rohrzuckerlösungen (5—1 Proz.) hatten bei Vermischung mit Kulturspirochäten keinen sichtbar schädigenden Einfluß, auch Bouillon- und Peptonwasser nicht, aber in diesen Medien gelang die Kultur auch nicht.

In destilliertem Wasser (mit Serumzusatz) dagegen wächst die Sp. icterogenes ausgezeichnet.

In normalem — aber sonst hartem — Wasser (mit Serumzusatz) scheint das Wachstum ein beschränktes zu sein. So konnten wir mit Wasserproben aus Göttingen, die uns Herr Kollege Reichenbach in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte, mit einer Gesamthärte von 48° und einer bleibenden Härte von 32,9° — sowie mit einem Wasser aus Osterode mit einer Härte von 47,6 und Elze



mit einer Härte von 25,1, die wir als Kulturmedien (mit Serumzusatz) — nach Sterilisation resp. Filtration benützten — die Spirochäte wohl zur Vermehrung bringen, es gelang aber meist nicht, sie in Passagen weiterzuzüchten, während das im Dahlemer Leitungswasser ebenso wie im Straßburger, Erfurter glatt gelingt. Im Kieler Leitungswasser (Gesamthärte 19,1°, bleibende Härte 4,2°), sowie im Jenaer (Rosental, Gesamthärte 21,28°, bleibende Härte 5,04°) war das Wachstum ebenso gut wie in unserem Dahlemer (Charlottenburger, Gesamthärte 15°, bleibende Härte 6°) und auch im Greifswalder Leitungswasser<sup>1)</sup>. Ähnliches beobachteten wir bei dem Kulturverfahren mit dem Wasser der obengenannten S. Quelle. Auch da gelangen die Passagen nicht. Beim Anlegen der sogenannten „Wasserkulturen“ an verschiedenen Orten sind diese Verhältnisse zu berücksichtigen. Ob die Härte allein ausschlaggebend ist, lassen wir dahingestellt.

Hingegen haben wir mit dem filtrierten oder sterilisierten Wasser vom Wannsee, aus einem Fischteich des Gesundheitsamtes sowie anderen Wässern, in denen auch die *Pseudoicterogenes* nachgewiesen war, eine Kultur der *Sp. icterogenes* ohne Schwierigkeiten erzielt.

Wir sehen also, daß die *Sp. icterogenes* wenigstens unsere Kultur-Spirochäte in gewisser Hinsicht, und zwar in bezug auf Reaktion und Salzgehalt des Nährbodens, ziemlich anspruchsvoll ist, und daß sie deshalb wohl auch in der Außenwelt oft keine zureichenden Bedingungen für ihre Persistenz finden wird, zumal auch das Sonnenlicht, die Fäulnis und das Antrocknen schädigend einwirken. Aber unter gewissen Bedingungen wird sie doch bei Abschluß von Licht, bei genügender Feuchtigkeit und geeigneter Temperatur besonders in neutralen oder leicht alkalischen Medien — besonders im Wasser, feuchtem Boden sich einige Zeit erhalten, wenn nicht gar vermehren und so einen gewissen saprophytischen Charakter annehmen können. Höchstwahrscheinlich verliert sie aber auch hier sehr bald ihre Virulenz.

Was die *Pseudoicterogenes* betrifft, so haben wir feststellen können, daß auch sie sich insofern den parasitischen Bedingungen anpassen kann, als sie auch bei Temperaturen von 37° fortkommen kann. Sie scheint wenig anspruchsvoll zu sein, da sie in den verschiedensten Wässern und zwar im Schlamm lebt und sich auch in diesen hält, wenn man sie monate-, ja jahrelang im Laboratorium aufhebt. Auch gegen Einfrieren und Auftauen ist sie wenig empfindlich. Interessant ist die Spielart, die im Solwasser lebt (*Sp. pseudoicterogenes salina*, Uhlenhuth und Zuelzer), während die nicht zu differenzierende *Pseudoict.* aus der Wasserleitung (*Sp. pseudoict. aquaeductum*, Uhlenhuth und Zuelzer) ebenso wie die echte *Icterogenes* durch Zusatz von NaCl-Lösung schwer geschädigt wird. Es gibt also — ebenso wie von *Sp. plicatilis*, *eurystrepta* und *stenostrepta* (Zülzer) — einen Süßwasser und einen Salzwassertypus; womit nicht gesagt sein soll, daß sich der eine in den anderen nicht durch Gewöhnung allmählich überführen läßt.

Eine Reinkultur der *Pseudoicterogenes* haben wir bisher nicht erzielt — wohl aber eine sehr schöne Anreicherung im Wasser mit geringem Serumzusatz nach Art der Wasserkultur. Die von Ameri-

1) Herrn Prof. Abel, Kisakalt und Friedberger sagen wir für Uebersendung der Wasserproben unseren besten Dank.

kanern empfohlene Filtration durch Berkefeld-Kerzen zur bakterienfreien Gewinnung von Spirochäten hat uns nicht zum Ziel geführt, da die von uns verwandten Kerzen Spirochäten nicht durchlassen.

Zur Entscheidung, ob die im Wasser vorkommenden *Sp. pseudoicterogenes* mit der *Sp. icterogenes* etwa identisch wäre, kam in erster Linie der Tierversuch in Betracht. Wir wissen, daß Meerschweinchen nach Einspritzung der *Sp. icterogenes* an typischer Gelbsucht erkranken und sterben. Es wurden nun eine größere Anzahl Meerschweinchen (32 Stück) mit mehreren verschiedenen Wässern, die die *Sp.* mehr oder weniger reichlich enthielten (Artern, Ausfluß Teltowkanal, Schwefelquellen, Wasserleitungshähne) eingespritzt.

Um die septische Erkrankung, die bei Einspritzung intraperitoneal und subkutan leicht auftreten kann, zu verhüten, wurde die intravenöse Einspritzung gewählt. Die Tiere vertrugen die Einspritzung größerer Mengen des angereicherten Wassers sehr gut. Einige Tiere gingen ein. Es konnten in der Bauchhöhle und in einigen Organen Spirochäten vom *Recurrentis*-Typ nachgewiesen werden, die auch vorher in diesem Wasser (Artern) nachweisbar waren.

An Gelbsucht starb kein Tier. Auch wurden Spirochäten bei wiederholter Punktion der Bauchhöhle nicht gefunden.

Es könnte dieser Befund als Beweis gegen die Identität verwertet werden. Aber wir wissen, daß die *Sp. icterogenes* auch in künstlicher Kultur ihre Virulenz bald verliert. Auch sonst verliert die *Sp. icterogenes*, wie wir sehen, in der Außenwelt bald ihre Virulenz. Auch die von wilden Ratten frisch ausgeschiedenen Spirochäten sind vielfach avirulent. Wir haben mehrfach Rattennieren verimpft, die zahlreiche Spirochäten enthielten, aber die geimpften Meerschweinchen nicht krank machten, in einem Falle wurde das Meerschweinchen aber zum Parasitenträger, indem in der Niere sich die *Sp. icterogenes* ansiedelte.

Es lag nun die Möglichkeit vor, daß die Tiere durch Vorbehandlung mit den avirulenten Formen immun geworden wären, da man ja mit avirulenten Kulturspirochäten der *Sp. icterogenes* Meerschweinchen, wenn auch längst nicht regelmäßig, immun machen kann. Es wurden daher mehrfach mit Wasser vorbehandelte Tiere nach 4 Wochen mit virulentem Weil-Material nachgeimpft. Alle Tiere erkrankten und starben an Weil bis auf eins, das vielleicht von Haus aus immun war.

Es wurden ferner wilde Ratten mit spirochätenhaltigem Wasser gefüttert, nachdem festgestellt war, daß sie normalerweise keine Spirochäten durch den Urin ausschieden. Es wäre ja auch denkbar, daß die Ratten, auch wenn sie bei künstlicher Infektion sehr selten erkranken, die Spirochäten aus dem Wasser in sich aufnehmen und so zu Parasitenträgern werden. Wir haben aber ein Haften der Spirochäten nicht beobachten können.

Da wir nun wissen, daß ein Weil-Immunserum beim Vermischen mit der *Sp. icterogenes* diese unbeweglich macht und allmählich auflöst, haben wir Serum von hoch immunisierten Kaninchen einerseits mit *Sp. icterogenes*, andererseits mit *Pseudoicterogenes* aus der Solquelle von Artern versetzt. Dabei zeigte sich, daß auch die *Pseudoicterogenes* in gewisser Weise, allerdings nur in geringem

Grade, beeinflusst wurde. Die anderen im Wasser vorkommenden Spirochätenformen bleiben ganz unbeeinflusst.

Die aus den Hähen der Wasserleitung angereicherte *Sp. pseudoicterogenes* (aquaeductum) wurde durch ein sehr hochwertiges Weil-Serum vom Kaninchen<sup>1)</sup> (Agglutinationstiter 1:10 Mill.) in kaum sichtbarer Weise beeinflusst.

Auch mit normalem Kaninchenserum zeigte sich keine Beeinflussung.

Wir konnten also feststellen, daß die im Wasser vorkommende *Sp. pseudoicterogenes* serologisch nicht näher verwandt sind mit der echten *Sp. icterogenes*.

Immerhin dürfte die Tatsache, daß in den verschiedensten Wassern Spirochäten vorkommen, die morphologisch von der *Sp. icterogenes* nicht zu unterscheiden sind, in höchstem Maße beachtenswert sein, besonders deshalb, weil in der ganzen Literatur immer wieder auf den engen Zusammenhang der Weilschen Krankheit mit dem Wasser hingewiesen wird und wir selbst uns im Felde von der Richtigkeit dieser Beobachtung überzeugt haben, ohne daß es möglich gewesen wäre, die Uebertragung durch am Wasser lebende Mücken wie bei der Malaria durch Tatsachen zu stützen.

Wenn wir also auch nicht feststellen können, daß diese Spirochäten nicht identisch sind, und sicher auch unter den *Pseudoicterogenes* verschiedene Spielarten — Süß-, Salzwasser — vorkommen, so ist es doch nicht unwahrscheinlich, daß die freilebenden Spirochäten mit der *Sp. icterogenes* in phylogenetischem Zusammenhang stehen. Es ist sehr wohl denkbar, daß unter Bedingungen, die wir nicht kennen, avirulente Formen virulent werden können, denn alle pathogenen Mikroorganismen sind wohl ursprünglich aus Saprophyten hervorgegangen. Wir wollen den festen Boden der Tatsachen nicht verlassen und uns nicht in Spekulationen verlieren. Doch möchten wir in diesem Zusammenhange feststellen, daß nach unseren Beobachtungen z. B. die in der Außenwelt so weit verbreiteten *Paratyphusbazillen* von Haus aus harmlose Saprophyten sind, die unter bestimmten Verhältnissen ihren Charakter ändern und pathogene Eigenschaften annehmen. Sie stehen nach unserer Ansicht auf der Grenze zwischen Saprophytismus und Parasitismus und können sehr leicht von einem zum anderen übergehen.

Besonders wenn sie durch längeres Verweilen im Tierkörper sich angepaßt haben, genügt vielleicht eine vorübergehende Schwächung der natürlichen Widerstandskraft des Organismus, um diesen Bakterien den Uebergang zum Parasitismus zu ermöglichen.

Es ist von Uhlenhuth in Gemeinschaft mit Haendel festgestellt, daß Ratten, die in völlig gesundem Zustande Gärtner-Bakterien ausschieden, sofort an einer Gärtner-Infektion erkrankten, sobald sie durch besondere Eingriffe (Tumorimpfung!) in ihrem Gesundheitszustand gelitten hatten. Das Gleiche gilt (nach Zwick und Weichel) von weißen Mäusen, die dauernd mit Fleisch gefüttert wurden. Ja es kann von solchen Tieren sogar eine Epizootie ausgehen, wenn die Bakterien unter den günstigen Ernährungsbedingungen im Tierkörper eine besondere Virulenz erlangt haben. Andererseits können sie unter ungünstigen Wachstumsbedingungen wieder zum saprophytischen Dasein zurückkehren.

1) 1 ccm dieses Serums schützte in einer Verdünnung von 1:10 000 gegen 1 ccm Virusblut.

Uns liegt es fern, diese tatsächlichen Beobachtungen auf die *Pseudoicterigenes* des Wassers zu übertragen. Von diesen wissen wir ja bis jetzt nicht, ob sie überhaupt virulent werden können. Auch weisen die serologischen Befunde doch auf eine nicht so nahe Verwandtschaft hin, wie etwa bei den Vertretern der *Paratyphus*-gruppe.

Da die Infektionsquelle bei der Weilschen Krankheit außerhalb des Menschen gesucht werden muß, so wäre es sehr verlockend, das Wasser als Infektionsquelle anzunehmen. Es fehlen aber dafür tatsächliche Beweise, wenn auch die Badeepidemien dafür zu sprechen scheinen.

Es kommt daher als außerhalb des Menschen liegende Infektionsquelle nach unseren bisherigen Feststellungen tatsächlich zunächst nur die Ratte in Frage, die lebende *Spirochäten* ausscheidet.

Bei den engen Beziehungen, die die Ratten zum Wasser haben, könnte man annehmen, daß die *Sp. pseudoicterigenes* sich allmählich dem Rattenkörper angepaßt hat und daß der Rattenorganismus die Stätte ist, wo der Uebergang von Saprophytismus zum Parasitismus sich ausbildet, zumal die Ratten selbst kaum erkranken, sondern nur Parasitenträger werden. Es wäre sehr wohl denkbar, daß die bei der Ratte vorhandene erhebliche Resistenz gegen eine regelrechte Erkrankung an Weil darauf beruht, daß sie durch fortgesetzte Aufnahme der freilebenden *Spirochäten* eine gewisse Immunität erworben hätte, die sie vor einer ausgesprochenen Erkrankung schützt, aber nicht davor, Parasitenträger zu werden, ähnlich wie wir eine solche relative Immunität bei der Ratte gegen *Paratyphusbazillen* kennen. Doch das sind mehr interessante Erwägungen.

Daß die Krankheit beim Menschen — im Vergleich zu dem so häufigen Vorkommen der *Sp. icterigenes* bei Ratten — so selten beobachtet wird, beruht nach unseren Untersuchungen darauf, daß die *Sp. icterigenes* schon bei der Ausscheidung durch den Urin schwer geschädigt wird. Sie stirbt entweder bald ab oder wird avirulent. Dazu kommen die schädigenden Einflüsse der Außenwelt (Antrocknen, Sonnenlicht, hohe Temperatur, Fäulnis), die sie schnell zerstören. Man kann vielleicht geradezu behaupten, daß es ein Zufall ist, wenn lebende virulente *Spirochäten* in der Außenwelt noch einige Zeit sich am Leben erhalten. Das leicht alkalische Wasser ist dazu wohl das geeignetste Medium. Aber auch hier werden sie nach kurzer Zeit avirulent oder sterben ab. Es muß schon eine ganz besonders günstige Gelegenheit vorhanden sein, um eine Infektion hervorzurufen. Diese bot sich in den Kohlengruben der Japaner, in den Schützengräben, Unterständen, den Höhlen und Stollen des Stellungskrieges, wo die Mannschaften dauernd mit den Ratten in engster Berührung lebten, wo diese Tiere dauernd über ihre Lagerstellen liefen, ihre Nahrungsmittel anfraßen und diese auch mit ihrem Urin ganz frisch infizierten. Hier war die Berührung eine ganz besonders intensive wie sie sonst wohl bei keiner anderen Gelegenheit je vorkommen wird.

Daher wurden auch nur vorn in den Stellungen Weil-Erkrankungen beobachtet, niemals in den hinteren Ortsquartieren. Auch war hier die Zahl der Ratten noch viel größer, als in den Ortsquartieren, weil sie vorn besonders günstigen Unterschlupf und

an den Lebensmitteln der lebenden und gefallenen Soldaten eine willkommene Nahrung fanden.

Dazu lagen die Frontstellungen, wo die Weilsche Krankheit in gehäufte Zahl auftrat, meist in sumpfigem, wasserreichen Gelände, wo Ratten sich mit Vorliebe aufhalten.

Die mit dem Rattenurin ausgeschiedenen Spirochäten gelangen dann, soweit sie ausnahmsweise nicht abgestorben sind, direkt oder durch Vermittlung des Wassers (Waschwasser), feuchten Boden, mit den Fingern in den Mund, in die Augenschleimhäute oder durch rissige Haut — Kratzwunden — in den menschlichen Körper. Rissige oder sogar unverletzte Haut und Schleimhaut können die Spirochäten leicht durchwandern (Uhlenhuth und Fromme).

Es gehört vielleicht aber auch beim Menschen noch eine besondere Schwächung der Widerstandskraft dazu, um eine Infektion zu ermöglichen.

Vor allem scheint eine Infektion per os nach dem, was wir über die abtötende Wirkung des Magensaftes und der Galle kennen gelernt haben, auch höchst selten zu sein.

Wir haben also auf Grund unserer Feststellungen eine sehr plausible Erklärung für das seltene Vorkommen der Weilschen Krankheit. Als Ursache für die Badeepidemien können wir vorläufig nur das durch Rattenurin infizierte Badewasser annehmen. Der von uns geführte Nachweis der im Wasser vorkommenden, den Icterogenes ähnlichen Spirochäten ist zunächst nur eine Tatsache von phylogenetisch interessanter Bedeutung.

## 26. Vortrag. Margarete Zuelzer:

### Biologische und systematische Spirochätenuntersuchungen.

Hierzu 1 Tafel.

Unter den medizinisch wichtigen Mikroorganismen ist die Gruppe der Spirochäten durch einen ungewöhnlichen Reichtum an Gattungsnamen ausgezeichnet. Als Beispiel hierfür mag der neu entdeckte Erreger der Weilschen Krankheit dienen, der von den Autoren in drei verschiedenen Gattungen untergebracht wurde. Uhlenhuth und Fromme benennen diesen Krankheitserreger *Spirochaeta icterogenes*, Groß und Gonder bezeichnen ihn als *Treponema icterogenes*, und Noguchi endlich, der die deutsche Literatur nicht berücksichtigt, nennt ihn *Leptospira*. Ihren Grund hat diese Verwirrung in der Nomenklatur der Spirochäten, in der großen Schwierigkeit, die in der Morphologie dieser kleinen und subtilen Organismen sich findet und in dem in der modernen Zoologie herrschenden Bestreben, große Gattungen möglichst aufzuteilen.

Noch immer vertritt eine große Anzahl von Forschern den Standpunkt, daß das Genus *Spirochaeta* überhaupt eine Sammelbezeichnung für ganz verschiedene Organismen darstelle. In dem Bestreben, die Sammelgruppe heterogener Arten zu sichten, wurden die Unterschiede

der einzelnen Spezies möglichst hervorgehoben und fast für jede Art eine besondere Gattung aufgestellt. Trotzdem gehören doch alle diese Gattungen in dieselbe große Gruppe, die demnach ebenso heterogen geblieben ist, als sie war. Die Frage, ob ein Organismus eine echte *Spirochaeta* ist, hat nicht nur theoretisches, sondern auch praktisches Interesse und kann unter Umständen für therapeutische Fragen von Wichtigkeit sein.

Ich möchte glauben, daß in der Tat einige zur Spirochätengruppe gezählte Arten nicht in sie hinein gehören, daß sie vielmehr nur auf Grund äußerer Ähnlichkeit zu diesen Organismen gestellt worden sind. Als Beispiel mag hier der als *Spirochaeta morsus muris* von Japanern neuerdings beschriebene Organismus erwähnt werden, der Erreger der Rattenbißkrankheit. In den folgenden Ausführungen werde ich ausreichende Gründe dafür anführen, daß diese *Spirochaeta* wohl mit Unrecht als solche bezeichnet worden ist. Der betreffende Organismus ist meines Erachtens eine echte Spirille. Ich ziehe diesen Schluß aus vergleichend-morphologischen Beobachtungen an dem reichen Spirochätenmaterial, das ich in den letzten Jahren in der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts bearbeiten konnte. Ehe ich die spezielle Morphologie der freilebenden Formen und die Uebereinstimmung und Unterschiede derselben mit den pathogenen resp. saprophytischen näher betrachte, möchte ich zwei Punkte besprechen, welche mir für die Auffassung und das Verständnis der Spirochäten von besonderer Bedeutung zu sein scheinen: das Verhalten der Spirochäten in Kulturmedien und das fast überall in der Natur verbreitete Vorkommen derselben.

Die Vervollkommnung der Spirochätenzüchtung in den letzten 6 Jahren hat dem Studium der Morphologie der Spirochäten wesentlichen Vorschub geleistet. Besonders die Spirochätenzüchtung nach der Ungermannschen Methode in flüssigen Medien ist ein bedeutender Fortschritt, weil sie in viel besserer Weise als in starren und in halbstarren Medien jetzt leicht ermöglicht, Spirochäten in Hunderten von Passagen genau wie Bakterienkulturen fortzuzüchten und zu beobachten. Dabei hat sich herausgestellt, daß dem Medium ein erheblicher Einfluß auf die Form, Größe und Vermehrung der Spirochäten zukommt.

Der Einfluß des Mediums auf die Form ist besonders charakteristisch bei *Recurrentis*-Spirochäten zu erkennen. Während *Recurrentis*-Spirochäten in der Maus locker und unregelmäßig gewunden sind und diese großen Windungen bei den mannigfachen Bewegungen verändern, weisen dieselben Organismen in flüssigen Serumkulturen enge, regelmäßige Windungen auf, welche bei allen Bewegungen unverändert erhalten bleiben (Fig. 30). Einen entgegengesetzten Einfluß hat das Kulturmedium auf die Form von *Spirochaeta pallida*. Diese verliert in der Kultur ihr starres Aussehen und erscheint locker und unregelmäßig gewunden, sie nähert sich dann etwas dem Aussehen der *Recurrentis*-Spirochäten aus dem Tierkörper.

Auch auf die Größe ist der Einfluß des Nährmediums erheblich. Als bezeichnendes Beispiel hierfür sei *Spirochaeta icterogenes* angeführt, welche in der Maus eine Durchschnittslänge von 6–8  $\mu$ , im Meerschweinchen ebenso wie in flüssigen Kaninchenserumkulturen eine solche von 12–15  $\mu$  zeigt. In Kulturen von flüssigem Eselserum dagegen ist die Durchschnittslänge 10mal so groß, also 120–150  $\mu$ .

Aber nicht nur auf Größe und Formgestaltung, auch auf die Teilung hat das Medium einen erheblichen Einfluß. Ehe ich hierauf näher ein-

gehe, möchte ich betonen, daß der einzige Modus der Spirochätenteilung die Querteilung ist, und zwar bezieht sich dies auf die Spirochätenvermehrung im allgemeinen. Da in den neuen und neuesten<sup>1)</sup> Protozoenbüchern wie auch in den medizinischen Handbüchern<sup>2)</sup> immer wieder die Angabe von Längsteilungen der Spirochäten wiederkehrt, muß ich besonders hervorheben, daß ich bei den in gut gedeihenden Kulturen so unendlich zahlreichen Teilungen 3-, 4- und 5-fache Teilungen ebenso wie bei den Teilungen der Spirochäten aus dem Tierkörper sowohl im Leben im Dunkelfelde, als auch auf gefärbten Präparaten stets und immer wieder nur Querteilungen von Anfang bis zu Ende zu verfolgen und zu beobachten Gelegenheit hatte. Das Vorkommen von Längsteilungen als Vermehrungsart für Spirochäten muß ich unbedingt in Abrede stellen und halte es an der Zeit, daß diese alte Angabe nicht immer wieder ohne irgendwelche auf Beobachtungen gestützte Begründungen in den neuen Lehrbüchern Aufnahme findet.

Auf die Teilungsintensität und den Modus der Querteilung hat nun das Medium einen erheblichen Einfluß.

Als Beispiel hierfür mag wieder *Spirochaeta pallida* dienen. Im Tierkörper sind bei dieser Art nur — und gar nicht einmal häufig — Zweiteilungen zu beobachten. In gut gedeihenden Kulturen dagegen sind Zwei-, Drei- und Vierteilungen nichts Seltenes; auch teilen sich lange und kurze Exemplare.

Dasselbe ist bei gut gedeihenden Kulturen von *Spirochaeta gallinarum*, *icterogenes* und *recurrentis* der Fall. Wir finden in gut gedeihenden Kulturen solcher Spirochäten sowohl kurze als auch lange Individuen in Teilung, und zwar nicht nur in Zweiteilung, sondern auch in Drei-, Vier- und Fünffachteilung. Ich erinnere nun daran, daß dieselben Spirochäten im Tierkörper stets eine konstante Form haben. Schellack hat z. B. in systematischen Untersuchungen bei den verschiedenen *Recurrentis*-Typen im Tierkörper die Windungszahl stets konstant gefunden. Aus dem Befunde, daß z. B. *Spirochaeta Duttoni* konstant 8—12 Windungen aufweist, und nur die mit 12 Windungen sich teilen, hat er sogar auf das Auftreten von nur Quer- und nie Längsteilungen geschlossen. Es wird so die Wichtigkeit der Beobachtungen der verschiedenen Länge durch den Einfluß des Mediums ersichtlich. In üppig gedeihenden Kulturen werden die Spirochäten gewöhnlich durch die lebhaft einsetzenden Teilungen kürzer; 3—4 Windungen lange Exemplare sind keine Seltenheit. In stark verdünntem Serum oder in alten Kulturen dagegen — also unter ungünstigen Wachstumsbedingungen — läßt die Teilungsintensität nach und die Spirochäten werden in solchen Kulturen ganz lang (30—50—100 Windungen lang). Es liegen hier also ähnliche Verhältnisse vor wie bei Bakterien, die ja unter ungünstigen Existenzbedingungen auch zur Bildung von Scheinfäden neigen.

Wenn man beachtet, welche Wichtigkeit die Windungsanzahl, Individuallänge und Art der Teilung (d. h. Zwei- oder Mehrfachteilung) in der Systematik gefunden hat, wird man die Bedeutung der Variabilität und der Formgestaltung durch den Einfluß des Nährmediums erkennen.

1) M. Hartmann u. C. Schilling, Die pathogenen Protozoen. Berlin 1917.

2) Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 7. Aufl. 2 Jena 1913. Sobernheim-Löwenthal, Spirochätenkrankheiten. Mühlens, *Treponema pertenue*. Pfeiffer u. Friedberger, Lehrb. d. Mikrobiol. Jena 1919. Gotschlich, Die Spirochäten. Noguchi, Journ. of exp. Med. Mai 1918. Bd. 27. p. 575.

Werden durch verschiedene Formgestaltungen der Spirochäten in den verschiedenen Nährmedien die Unterschiede zwischen den einzelnen Gattungen schon etwas abgeschliffen, so kann die Berechtigung, für einzelne Formtypen besondere Gattungen aufzustellen, noch weniger aufrecht erhalten werden, wenn wir den Formenreichtum der von uns neuerdings aufgefundenen freilebenden Spirochäten betrachten, bei denen sich fließende Uebergänge von allen bekannten, bisher als eigene Gattungen bezeichneten Typen finden.

Die kleinen Wasserspirochäten vom Pallida-, Recurrens-, Refringens-, Buccalis- und Icterogenes-Typ sind (Fig. 3 - 29) ebenso wie die pathogenen Icterogenes-Spirochäten außerordentlich schwach lichtbrechend, meist nur im Dunkelfelde erkennbar und sehr schwer färbbar (Zuelzer 1918). Nur dadurch ist es wohl auch zu erklären, daß diese für die Spirochätenbiologie und Systematik gleich wichtigen Organismen dem Forscherauge so lange verborgen blieben. Es ist vielleicht nicht uninteressant zu erwähnen, daß ich auf meinen 8 Jahre alten, damals guten Sublimat-Eisenhämatoxylin-Präparaten aus dem Wasser mit *Spirochaeta plicatilis* und *stenostrepta* jetzt durch Nachfärbung mit der sehr intensiven May-Grünwald-Färbung Spirochäten vom Icterogenes- und vom Recurrens-Typ nachweisen konnte, während mir diese Formen bei meinem damaligen Arbeiten im gewöhnlichen Mikroskop ohne Dunkelfeldbeleuchtung vollständig entgangen waren.

Zusammenfassend möchte ich über den Einfluß der Medien auf die Spirochäten und über das Vorkommen der verschiedenen im Wasser freilebenden Typen auf die alte und immer wieder neu gemachte Erfahrung hinweisen, daß die Natur stets an fließenden Uebergängen reich ist und niemals in starren Formen sich erschöpft. Ebenso wie bei den Bakterien haben auch die Spirochäten nicht nur eine starre Erscheinungsform. Die neuen Mutationsforschungen bei den Bakterien haben uns erst gezeigt, daß die einzelnen Bakterienarten eine ganz außerordentliche Mannigfaltigkeit und Variabilität aufweisen. Meine Untersuchungen weisen nun ebenfalls auf eine Modulationsfähigkeit auch der Spirochäten hin. Daher glaube ich, daß es uns in der Erkenntnis weiter führen wird, statt, wie es jetzt in den Lehrbüchern geschieht, starre Unterschiede festzulegen, lieber der Modulationsfähigkeit und den Uebergängen in der Natur der Spirochäten nachzugehen. Die Ergebnisse meiner Untersuchungen weisen direkt darauf hin.

In früheren Arbeiten<sup>1)</sup> habe ich den Typus der Gattung Spiro-

1) Meine ersten Spirochätenuntersuchungen veröffentlichte ich 1910 im Zool. Anz. Bd. 35. Ich berichtete ferner über dieselben in einem Vortrag auf dem 5. internationalen Zoologenkongreß in Graz am 18. August 1910 (Verhandl. d. Kongr. in Graz 1910, erschienen 1911 p. 422), wobei ich auch die betreffenden Präparate demonstrierte. Diesem Vortrag und der Demonstration in Graz hat Herr Dobell beigewohnt. Meine ausführliche Arbeit wurde unter dem Titel „Ueber *Spirochaeta plicatilis* Ehrh. und deren Verwandtschaftsbeziehungen“ im Arch. f. Protistenk. Vol. 24. 1911 veröffentlicht.

In einer im Dezember 1910 erschienenen Arbeit von Dobell „On some parasitic Protozoa from Ceylon“ (in *Spolia Zeylanica*, Bd. 7) ist von derartigen Befunden noch nichts erwähnt. Erst im April 1911 berichtet Dobell in „The quarterly Journal of microscopical Science“ Vol. 156 über ähnliche Untersuchungen unter der Bezeichnung „On *Cristispira veneris* and the affinities and classification of Spirochaets“. Hierbei wird der von mir bereits auf dem Kongreß in Graz und in der Abhandlung 1911 ausführlich behandelte und als *Cristispira veneris* Zuelzer benannte Organismus nun als *Cristispira veneris* Dobell beschrieben. Ebenso beschreibt Dobell die schon in meinen Arbeiten 1910 und 1911 geschilderte und abgebildete *Spirochaeta*



*chaeta*, *Spirochaeta plicatilis* (Fig. 1), näher geschildert und auf die Bedeutung der Kenntnis der freilebenden Formen für das Verständnis der kleinen saprophytischen oder pathogenen Arten hingewiesen. Ich will daher hier nur kurz darauf hinweisen, daß für die Zugehörigkeit eines Organismus zu den Spirochäten eine Uebereinstimmung seines Baues mit dem von *plicatilis* gefordert werden muß. *Spirochaeta plicatilis* hat eine starke aktive Flexibilität. Das spiralig gewundene Plasma dieser *Spirochaeta* wird von einem für die Spirochäten besonders charakteristischen Organell, einem geraden, elastischen Axenfaden durchzogen. Bei den Bewegungen bleiben die primären oder Elementarspiralen unverändert erhalten. Die Spirochätenzelle ist zylindrisch, im Querschnitt kreisrund und wird von keiner morphologisch differenzierten Membran umgeben. Die Vermehrung findet ausschließlich durch Querteilung, und zwar sowohl Zwei- als auch Vielfachteilung, statt. Demnach ist das Genus *Spirochaeta* wohlabgegrenzt. Die ebenfalls im Wasser lebende, dem gleichen Genus angehörende, ebenso gebaute *Spirochaeta stenostrepta* (Fig. 2) ist gekennzeichnet durch die sehr engen, einander berührenden Spiralen und durch ihre geringe Körperbreite (nur ca.  $\frac{1}{2}$   $\mu$ ). Diese engen Körperspiralen bleiben bei allen den mannigfaltigen Bewegungen erhalten. Häufig erscheinen die Enden etwas umgebogen, ohne daß diese Erscheinung stabil wäre.

Bei unseren gemeinsamen Untersuchungen des Wassers fanden Herr Geh. Rat Uhlenhuth und ich in der Berliner Wasserleitung nun Formen, welche der oben erwähnten *Spirochaeta stenostrepta* ähneln (Fig. 5—9). Nur ist der Körper noch feiner und noch schwächer lichtbrechend; die Enden dieser Formen, deren Körper ebenfalls aus regelmäßigen, bei allen Bewegungen unverändert bleibenden Spiralen zusammengesetzt ist, sind meist etwas hakenförmig umgebogen (Fig. 7—9), der Körper ist ziemlich gleichmäßig dick und die Spiralen sind fast stets bis an die Enden zu verfolgen (Fig. 6—9). Bei den Bewegungen schlängelt sich meist noch der ganze Körper, doch wurden auch Bewegungen beobachtet, bei denen das Mittelstück starr und unbeweglich blieb und eines oder beide der gelegentlich umgebogenen Enden eigene Bewegungen ausführten.

Etwas charakteristischer wurden die Eigenbewegungen der meist halbkreisförmig abgebogenen Enden bei sonst ebenso gebauten Spirochäten beobachtet, welche aus Absatzbecken der Kläranlage Stahnsdorf, aus Wannseeschlamm und anderen Fundorten stammten (Fig. 10). Hier ist das Umgebogensein der Enden, welche eine starke Eigenbeweglich-

*stenostrepta* Zuelzer und *Spirochaeta eurystrepta* Zuelzer unter der Bezeichnung *Spirochaeta fulgurans* Dobell und *minima* Dobell in einer ein volles Jahr später erschienenen Abhandlung (Researches on the Spirochaets and related organisms, in Arch. f. Protistenk. Bd. 26. 1912, datiert Nov. 1911). Auf meine Arbeiten nimmt Dobell hierbei nur kurz im Nachtrag in der Frage der Volutin- oder Chromatinkörner Bezug. Die von Dobell angegebenen Bezeichnungen sind demnach nur Synonyma zu meinen Benennungen. Auch die von Dobell als neu angeführten Tatsachen: die Notwendigkeit der Anwesenheit von  $H_2S$  zum Gedeihen freilebender Spirochaeten, die Flexibilität, Bewegungen und Membranbildungen bei *Spirulina* und *Spirochaeta* werden bereits in meinen Arbeiten 1910 und 1911 ausführlich behandelt.

Möglicherweise sind einzelne von Dobell als neu angeführte, freilebende Spirochäten mit einigen der oben beschriebenen neuen Formen identisch, so z. B. Dobells *Treponema vivax* mit *Spirochaeta biflexa* Wolbach und Binger. Doch ist eine genaue Identifizierung auf Grund der beigegebenen Zeichnungen ohne Einzelheiten und ohne Angabe der Beziehungen der Größenverhältnisse untereinander nicht möglich.

keit zeigen, zu einer dauernden Bildung geworden. Doch verjüngt sich die Spirale nach den Enden zu nur recht wenig. Zeitweilig strecken auch diese Spirochäten sich stenostrepta-artig aus und bewegen sich durch Schlängelungen des ganzen Körpers vorwärts. Ich halte diese Form wohl mit *Spirochaeta* (*Leptospira*) *biflexa* Wolbach und Binger für identisch. Weitere der stenostrepta-ähnliche Spirochäten, welche jedoch noch feiner und noch schwächer lichtbrechend sind, treten besonders reichlich im Solgraben von Artern auf (Fig. 14, 15). Ihr Körper ist ebenfalls aus stabilen, feinsten, einander berührenden Elementarspiralen zusammengesetzt. Diese Spirochäten sind jedoch dadurch gekennzeichnet, daß der größte Teil des Spirochätenkörpers, das Mittelstück etwas dicker, etwas starrer und meist gerade gestreckt ist. Von diesem deutlich abgesetzt, nicht nur umgebogen, wie bei der eben beschriebenen Form, sind die beiden hakenförmig gekrümmten, selbst oft mit doppelten dreieckigen Umbiegungen, nach der Spitze zu sich stark verjüngenden Enden, welche eine eigene lebhaft aktive Beweglichkeit zeigen. Die feinen Körperwindungen sind nur gelegentlich bis ans Ende selbst zu verfolgen, meist bleibt das letzte Stückchen ungeringelt. Ganz ebensolche Formen fanden sich auch in großen Mengen zwischen Moniliageflechten in Schleimpfröpfen an Wasserhähnen der Berliner Wasserleitung (Fig. 11—13). Aus dieser Beschreibung wird wohl die ganz außerordentlich große Uebereinstimmung dieser Wasserspirochäten mit der pathogenen *Spirochaeta icterogenes* (Fig. 16, 17) ersichtlich. Morphologisch sind die beiden Formen nicht zu unterscheiden, nur ist die Wasserform noch schwerer färbbar als die pathogene. Für dieselbe wird der Name *Spirochaeta pseudoicterogenes* (*aquaticus*) vorgeschlagen unter der Voraussetzung, daß sie sich wirklich als besonderer Mikroorganismus erweist. In einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> habe ich gezeigt, daß es gelingt, die Plasmaspiralen von *Spirochaeta icterogenes* mit Weil-Immunserum aufzulösen, und daß dann der elastische Achsenfaden der *Spirochaeta* übrig bleibt. Dasselbe ist nun der Fall, wenn man das gleiche Immunserum der pathogenen Weil-Spirochäten auf Salzwasser *Pseudoicterogenes*-Spirochäten einwirken läßt. Es wurde hierfür *Spirochaeta pseudoicterogenes salina* n. sp. aus dem Solgraben von Artern verwendet, an welchem Fundplatz diese Spirochäten besonders reichlich vorkommen. Es scheint mir besonders bedeutsam zu sein, daß gleichzeitig in dem gleichen Wasser vorhandene *Spirochaeta plicatilis marina* Zlz.<sup>2)</sup> und *stenostrepta marina* Zlz. nicht aufgelöst werden. Doch habe ich diese Untersuchungen leider nur wenige Male und mit verhältnismäßig hohen Konzentrationen des Immunserums durchführen können<sup>3)</sup>.

1) Zuelzer 1917, Ueber die Weilsche Spirochäte und deren Beziehungen zu verwandten Organismen. (Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde. Berlin. No. 7.)

2) Zuelzer 1918, Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Entwicklung der Weilschen Spirochäte. (Abhandl. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 51. Heft 1)

3) Dagegen war ein Einfluß von Weil-Immunserum auf *Spirochaeta pseudoicterogenes* aus dem süßen Wasser nicht klar erkennbar. Ein hochwertiges *icterogenes*-Immunserum, daß bei Verdünnungen bis zu 10 Millionen *Spirochaeta icterogenes* agglutinierte und auflöste, griff die *Spirochaeta pseudoicterogenes* des Süßwassers überhaupt nicht an. Auch ein Antiserum der Süßwasser-*Spirochaeta pseudoicterogenes*, welches durch dreimalige intravenöse Injektionen von je 8 ccm Serumwasserkultur ins Kaninchen gewonnen worden war, beeinflusste *Spirochaeta icterogenes* garnicht, während dieses allerdings nicht hochwertige Antiserum bis zu Verdünnungen 1:10 die *Spirochaeta pseudoicterogenes* agglutinierte und auf-

Auch in den wesentlichen Bauverhältnissen stimmen diese Spirochäten in weitgehendem Maße mit *Spirochaeta plicatilis* überein. Insbesondere ist diese Uebereinstimmung in dem charakteristischsten Artmerkmal, nämlich im Vorhandensein eines Achsenfadens, welcher das in Spiralen aufgewundene Protoplasma durchzieht, vollkommen.

Es lassen sich somit bei allen diesen Spirochäten in gerader Linie die Uebergänge von *Spirochaeta plicatilis* über *stenostrepta* und von dieser über verschiedene grad gestreckte und umgebogene oder gekrümmte Uebergangsformen hinweg bis zu *pseudoicterogenes* und *icterogenes* erkennen (Fig. 4—17). Ich zögere deshalb nicht, *icterogenes*, ebenso wie die anderen eben genannten Formen, zu dem Genus *Spirochaeta* zu stellen.

Die von Hoffmann beschriebene *Spirochaeta trimerodonta*, die von ihm neuerdings als *Leptospira trimerodonta* bezeichnet wird, gehört, da sie mit dem *Icterogenes*-Typ vollständig übereinstimmt, natürlich auch hierher.

Gonder und Groß haben in ihrer Arbeit über die Morphologie des *Treponema icterogenes* (Arch. f. Protistenk. Bd. 39. 1918/19) es als zum mindesten ungewöhnlich bezeichnet, Gewebs- und Blutparasiten mit freilebenden Organismen in einem Genus zu vereinigen, im Hinblick darauf, daß ich *Spirochaeta icterogenes* auf Grund morphologischer Befunde dem Genus *Spirochaeta* zuteilte<sup>1)</sup>; sie halten den Organismus für ein echtes *Treponema*. Meine neuen Befunde haben aber meine auf morphologische Uebereinstimmungen gestützte Auffassung auch weiterhin durch die Funde der Uebergangsformen als durchaus berechtigt erwiesen.

Noguchi<sup>2)</sup> will für den Typus der *Icterogenes*-Spirochäten sogar eine eigene neue Gattung aufstellen, mit der Begründung, daß sich seine *Leptospira* durch den Mangel des Achsenfadens, sowie durch das Vorhandensein der engen, einander berührenden Elementarspiralen von allen anderen Spirochäten unterscheidet. Die Angabe Noguchis, daß die Elementarspiralen bei allen Spirochäten außer bei *icterogenes* fehlten, entspricht jedoch nicht den Tatsachen. Die Primär- oder Elementarspiralen sind ja, wie ich früher (Zuelzer 1911) an *plicatilis* und *stenostrepta* nachweisen konnte, gerade ein charakteristisches Spirochätenmerkmal. Die Auffassung Noguchis ist um so auffallender, als er in seiner Arbeit gerade meine Abbildung von *Spirochaeta stenostrepta* Zlz. (Zuelzer 1911) wiedergibt und er überdies auf die große Ähnlichkeit der von mir zuerst beschriebenen *Spirochaeta stenostrepta* mit *icterogenes* hinweist. — Wenn Noguchi der Nachweis des Achsenfadens bei *icterogenes* nicht gelang, so kann er daraus keinen Schluß für die Systematik ziehen, denn dieser Mißerfolg liegt nur an der von ihm angewandten Technik. Der Achsenfaden ist vorhanden und ist jederzeit, wenn unter Benützung von Antiserum oder taurocholsaurem Natrium die Plasmaspiralen fortgelöst werden, zur Darstellung zu bringen (Zuelzer 1918). Dagegen ist dies

löst, wobei nach Fortlösung der Plasmaspiralen der Achsenfaden gut erkennbar wird. *Spirochaeta icterogenes*, *pseudoicterogenes salina* und *pseudoicterogenes (aquatilis aus dem Süßwasser)* sind demnach offenbar, obwohl sie morphologisch übereinstimmen, doch biologisch verschieden.

1) Zuelzer 1918.

2) Noguchi, Morphological characteristics and nomenclature of *Leptospira* (*Spirochaeta icterohaemorrhagiae* [Inada and Ido]). (Journ. of. exper. Medicine 1918. Vol. 27.)

nicht möglich bei Verwendung des von Noguchi benutzten 10-proz. Saponins.

Demnach erweisen sich auch diesen Einwänden gegenüber die Spirochäten des Icterogenes-Typus als zu Recht dem Genus *Spirochaeta* zugehörig. Die Aufstellung des Genus *Leptospira* ist daher meines Erachtens nicht berechtigt.

Was nun die anderen pathogenen Blutspirochäten, die sogenannten Spirosomen syn. Spironemen, anbetrifft, so lautet für diese die Genusdiagnose nach Hartmann-Schilling<sup>1)</sup>, Gonder u. a.: ohne nachweisbare resp. erkennbare Innenstruktur, mit fibrillär gebautem Periplast und Randleiste, Bildung von Endfäden nach der Teilung. Bei vielen Forschern (Schaudinn, Prowazek, Hoffmann, Mühlens, Hartmann, Gonder und Noguchi) finden sich auch Angaben über das Vorhandensein einer undulierenden Membran bei diesen Spirochäten, welche an beiden Enden in geißelartige Periplastfortsätze auslaufen soll, sowie Beobachtungen von Vermehrung durch Längsteilung. Wenn diese Diagnose den Tatsachen entspräche, so würde allerdings in dieser Hinsicht eine gewisse Uebereinstimmung der als Spironemen bezeichneten pathogenen Blutspirochäten mit den Trypanosomen bestehen und sie von *Spirochaeta plicatilis* so abweichen, daß die Aufstellung eines eigenen Genus für sie gerechtfertigt wäre. Wie bei Icterogenes-Spirochäten habe ich meine Untersuchungen auch bei den anderen Blutspirochäten, an *Spirochaeta gallinarum* und *recurrentis*, an sehr reichlichem Material ausgeführt, und zwar sowohl an Spirochäten, die aus dem Tier stammen, als auch vor allem an solchen aus Serumkulturen nach der Ungermannschen Methode, die dafür besonders geeignetes Material lieferten. Für Untersuchungen über den feineren Bau der Recurrens- und Hühnerspirochäten benutzte ich ebenfalls Serumkulturen dieser Spirochäten. Bereits bei der Lebenduntersuchung im Dunkelfelde fällt ins Auge, daß bei den meisten Kulturspirochäten regelmäßig primäre Windungen vorhanden sind, welche bei den mannigfaltigen Bewegungen des sich schlängelnden und unregelmäßig gebogenen Spirochätenkörpers unverändert erhalten bleiben. Diese Windungen bei Kulturspirochäten sind unschwer zu erkennen, während ich sie dagegen bei Spirochäten aus dem Tier, bei Beobachtung im Blut selbst, nie wahrnehmen konnte (Fig. 30a).

Um den feineren Bau der schon so vielfach studierten Recurrens-Spirochäten erneut zu untersuchen, erschien mir daher das Kulturmateriel auch für gefärbte Präparate besonders geeignet.

Es wurden Ausstriche hergestellt, und zwar wurden die Ausstriche nach der in der Protozoentechnik üblichen Weise feucht fixiert (Sublimatalkohol) und weiter behandelt, mit Eisenhämatoxylin gefärbt und sorgfältig differenziert. So gelang es mir, allerdings nur in wenigen Präparaten, einwandfrei auch bei Recurrens- und Hühnerspirochäten einen Achsenfaden darzustellen. Auf diesen Präparaten ist der Achsenfaden schwärzlich gefärbt, das ihn spiralig umwindende Plasma hellblau (Fig. 30c).

Bei Giemsa-Präparaten wird die Farbe außen der Spirochäte aufgelagert, und es gelingt auch an mit Aceton differenzierten Präparaten nur sehr ungenügend Strukturen zu erkennen; durch den Organismus hindurchzusehen. Bei den Sublimat-eisenhämatoxylinpräparaten kann man

1) Hartmann-Schilling, Die pathogenen Protozoen. 1917. p. 336.

Erste Abt. Orig. Bd. 85.

Beiheft.

11

jedoch einwandfrei feststellen, daß, ebenso wie *Spirochaeta plicatilis*, auch diese Spirochäten von einem zentral gelegenen, gestreckten, stark färbbaren Achsenfaden durchzogen werden. Der Achsenfaden wird ebenso wie bei *plicatilis* vom Plasma in einer regelmäßigen Spirale umwunden.

Bei unseren Wasseruntersuchungen fanden Uhlenhuth und ich weit verbreitet in unseren Binnengewässern freilebende Organismen, die in Windungs- und Bewegungsart eine ganz außerordentliche Uebereinstimmung mit *Recurrens*- und Hühnerspirochäten zeigen (Fig. 21, 22). Sie leben auf der Oberfläche des Bodenschlammes, niemals frei flottierend, sondern stets auf einer Unterlage sich schlängelnd. Die Zahl der Windungen schwankt. Auch unter diesen Wasserspirochäten konnte eine ganze Reihe von Organismen festgestellt werden, deren Bau alle möglichen Uebergänge von *plicatilis*-artigen bis zu *recurrens*- oder *buccalis*-artigen Formen zeigt (Fig. 20—29).

Zunächst ist eine Spirochäte recht häufig, welche der *plicatilis* sehr ähnelt, nur viel zarter ist als jene, etwa wie *Recurrens*-Spirochäten in flüssiger Kultur (Fig. 22). Die Windungen einer anderen, kleineren Form sind flacher und unregelmäßiger (Fig. 20), die einer anderen, der letzteren wieder ähnlichen, weiter und unregelmäßiger. Bei intravenösen Einspritzungen von Schlamm in Meerschweinchen gelang es übrigens in zwei Fällen, die gleichen Spirochäten bei dem nach 3 Tagen erfolgten Tode der Tiere in reichlicher Menge im Peritoneum der Tiere nachzuweisen (Fig. 28). Leider gelangen weitere Passagen nicht, so daß ich die Frage, ob die freilebenden Spirochäten auch pathogen werden können, noch nicht zu beantworten vermag. Vielleicht liegen die Verhältnisse etwa ebenso, wie bei den Tuberkelbazillen und den saprophytischen säurefesten Stäbchen. Weitere Versuche über das etwaige Pathogenwerden solcher freilebender Spirochäten sind noch im Gange.

Zusammenfassend möchte ich über die *recurrens*-artigen Spirochäten bemerken, daß auch die als typische Vertreter der Gattung *Spironema* bekannten Spirochäten, nämlich *Spirochaeta recurrentis* und *gallinarum*, durch den Nachweis eines von einer Plasmaspirale umgebenen Achsenfadens, und durch ihre ausschließliche Vermehrung durch Querteilung mit dem Typus der Gattung, mit *Spirochaeta plicatilis* in den wichtigsten Merkmalen in so weitgehender Weise übereinstimmen, daß ich es für überflüssig und ungerechtfertigt halte, für dieselben ein eigenes Genus aufzustellen, daß vielmehr die sogenannten Spirosomen oder *Spironemaceen* nur als besondere Arten in das Genus *Spirochaeta* einzureihen sind. Das scheint mir um so mehr geboten zu sein, als auch bei den von uns gefundenen Wasserspirochäten dieses Typs der Nachweis gelang, Uebergänge von *plicatilis*- bis zu *recurrens*-artigen Spirochäten zu finden. Vorläufig allerdings konnten wir nur morphologische Uebergänge feststellen, während der Nachweis biologischer Uebereinstimmungen noch aussteht.

Als dritte Spirochätengruppe bleibt endlich das Genus *Treponema* zu besprechen. Die Genusdiagnose lautet nach Hartmann-Schilling (1917 p. 336) u. a.: mit nicht strukturiertem Periplast, ohne Randleiste, mit fadenförmigen Fortsätzen an einem oder beiden Körperenden, Vermehrung durch Zweiteilung. Bei dem für diese Gruppe charakteristischen Vertreter, der Syphilisspirochäte, wird als Hauptmerkmal auf das starre gedrechselte Aussehen hingewiesen, in der Annahme, daß dies Aussehen

durch eine gewisse präformierte Starrheit der Plasmaspirale bedingt sei. Diese Auffassung scheint mir ebenfalls nicht zutreffend, denn eine solche Starrheit besteht in der Tat nicht. Ebenso wie bei den anderen bereits besprochenen Spirochätentypen ist das gedrechselte Aussehen nichts Stabiles. Denn je nach dem Medium, in dem der Organismus sich befindet, ändert er sein Aussehen. Während er im Tierkörper das allgemein bekannte starre gedrechselte Aussehen hat, erscheinen seine Windungen in Kulturen erheblich lockerer und unregelmäßiger, als man es im Tierkörper zu sehen gewohnt ist. Man kann aus Kulturen Bilder erhalten, auf denen der Syphiliserreger viel mehr dem *Recurrents*-Typ als dem starren *Pallida*-Typ ähnelt.

Auch bei *Spirochaeta pallida* scheint mir die typische Form nicht durch eine präformierte Spirale, sondern durch die Anwesenheit eines Achsenfadens bedingt. Allerdings ist mir der sichere Nachweis eines Achsenfadens bei der Kleinheit des Objekts, und da mir so reichliches Kulturmateriale wie bei den anderen Typen nicht zur Verfügung stand, bisher nicht gelungen.

*Spirochaeta plicatilis* teilt sich bekanntlich mehrfach. Vier- und Fünffachteilung sind nichts Seltenes, und es wurde als Gattungsunterschied von *plicatilis* und *pallida* geltend gemacht, daß *pallida* sich nur zweiteile, Mehrfachteilungen wie bei echten Spirochäten seien unbekannt. Auch diese Ansicht ist nicht zutreffend, da auch hier, wie bereits oben erwähnt wurde, auch für die Vermehrungsart der *Spirochaeta pallida* das Medium ausschlaggebend ist. Allerdings wurden im Tierkörper im allgemeinen nur Zweiteilungen beobachtet. In gut gedeihenden Kulturen jedoch kann man sich jederzeit überzeugen, daß auch bei *pallida* Drei-, Vier- und Fünffachteilungen vorkommen, so daß der Hinweis auf eine ausschließliche Zweiteilung für die Gendiagnose der Gattung „*Treponema*“ nicht verwertet werden kann.

Auch der *Pallida*-Typus ist unter den im Wasser freilebenden Spirochäten vertreten, und zwar in Exemplaren, welche die gleichen charakteristischen gedrechselten steifen Plasmaspiralen aufweisen (Fig. 19). Man findet jedoch im Wasser nebeneinander alle möglichen Uebergänge von diesen Formen zu *buccalis*-, *recurrents*- und *plicatilis*-artigen Formen. Einige Wasserformen vereinigen sogar das gedrechselte Aussehen der sogenannten *Treponema pallida* mit der Flexibilität der *Spirochaeta plicatilis* in so auffallendem Maße, daß hier eine Entscheidung, ob diese Organismen *Treponemen* oder Spirochäten seien, unmöglich zu treffen ist (Fig. 25, 27).

Nach alledem halte ich es deshalb nicht für angebracht, durch die Aufstellung des Genus *Treponema* die Spirochätennomenklatur zu komplizieren, sondern halte es für richtig, auch den als *Treponema* bezeichneten Organismen den Namen *Spirochaeta* zu belassen.

Fernerhin sind (Hartmann-Schilling 1917 p. 336) in der Gendiagnose von *Spirochaeta pallida* fadenförmige Anhänge an den Enden als für dieses Genus charakteristisch angeführt.

In einer früheren Arbeit habe ich gezeigt, daß bei der Querteilung von *Spirochaeta plicatilis* die Teilungsstelle durch die lebhaft und ungleichsinnig sich bewegendes Teilstücke dünn ausgezogen wird und daß daher dann bei der Teilung die beiden Teilhälften nach dem Durchreißen dadurch an dieser Stelle spitze Enden erhalten.

Derselbe Vorgang in etwas komplizierterer Form spielt sich nun auch bei den Querteilungen, und zwar sowohl den Zwei- wie auch bei den Mehrfachteilungen von *Spirochaeta pallida*, *recurrentis* (Fig. 33a—c), *gallinarum* ab. Das Plasma ist bei diesen Organismen offenbar viel zäher als das flüssigere von *plicatilis*. Daher wird dasselbe an der Teilungsstelle vor der Trennung hier von den sich sehr lebhaft und ungleichartig bewegendenden Teilstücken lang und ganz dünn ausgezogen, viel länger und dünner als bei *plicatilis*. Bei der Teilung reißt dieser Faden meist ungefähr in der Mitte durch und dadurch entstehen die Endfäden der Spirochäten; sie sind direkte Fortsätze des mechanisch ausgezogenen Körperplasmas (Fig. 33a). Sie haben keine Eigenbeweglichkeit, und werden allmählich vom Plasma der Spirochäten resorbiert. Bei *Spirochaeta plicatilis* kann man verfolgen, wie sich dabei die spitzen Enden allmählich abrunden. Demnach ist auch in diesem Vorgang eine weitere Uebereinstimmung der pathogenen Spirochäten mit *plicatilis* und ein allgemeines Spirochätenmerkmal zu sehen, dagegen nicht etwa eine Erscheinung, welche als Unterscheidungsmerkmal für ein neues Genus verwendet werden kann. Wohl aber ist dieser entstandigen Bildung eines Fadens in anderer Hinsicht größere systematische Bedeutung beizumessen, denn sie stellt, wie ich nachweisen konnte, einen bezeichnenden Unterschied von den begeißelten Bakterien dar.

Ich stütze mich hierbei auf Beobachtungen an kleinen, durchschnittlich 3—4 Windungen langen Wasservibrionen, die zusammen mit Spirochäten im Wasser vorkommen. Im Leben sind sie von diesen oft kaum zu unterscheiden. Auf mit Geißelfärbung gefärbten Präparaten erkennt man jedoch, daß das eine Ende dieser spiral gewundenen sich blitzschnell bewegendenden Organismen eine Geißel zeigt. Dieser Vibrio ist leicht zu züchten (Fig. 34). Auf Agarkulturen besitzt er nur eine Windung und eine endständige Geißel. In Serumbouillonkulturen jedoch bildet er spiralgewundene Ketten; in frischen Serumbouillonkulturen sind diese zunächst meist nur 2 oder 3 Windungen lang, in älteren Kulturen erreichen sie dagegen eine Länge von 10—20 Windungen. Diese letzteren Formen stellen eine Kette von unvollkommen geteilten, noch zusammenhängenden Vibrionen dar. Gewöhnlich ist nun nach jeder Windung, da, wo ein Individuum aufhört, seine Geißel nachzuweisen, und zwar seitlich; die Windungen aber gehen direkt und ohne Unterbrechung ineinander über. Die Teilungen gehen oft ungleichzeitig und unregelmäßig von statten. Daher haben oft mehrere Windungen nur eine Geißel; oft hat auch die Teilung noch nicht stattgefunden, wenn die Kette schon eine größere Länge erreicht hat, und die 10 oder auch 20 Windungen langen Vibrionen haben nur ihre eine endständige Geißel. Wie gesagt, ist das Nährmedium für die Teilungsintensität von ausschlaggebender Bedeutung. Die uns hier mit Bezug auf die Spirochäten besonders interessierende Tatsache ist die, daß die eigenbewegliche Bakteriengeißel bei der Teilung seitlich angelegt wird, während der nicht eigenbewegliche Spirochätenendfaden endständig ansteht, und zwar nicht als besondere Neubildung, sondern nur als Ueberrest des bei der Teilung dünn ausgezogenen Körperplasmas, daß er demgemäß nur kurze Zeit bestehen bleibt und schließlich vollständig resorbiert wird.

Zum Schluß möchte ich unter diesem Gesichtspunkt die bekannten sogenannten Mäusespirochäten betrachten.

Es sind dies im Blute von weißen und auch grauen Mäusen lebende, unseren Breiten harmlose Schmarotzer des Blutes. Sie sind meist



4—6 Windungen lang und haben an jedem Ende einen nicht sehr feinen, langen Plasmafortsatz (Fig. 32). Im Journ. of exp. Med. Vol. 25, *Spirochaeta morsus muris*, the cause of rat bite fever beschreiben Futaki, Takaki, Tanigouchi and Osumi 1917 und bilden neuerdings einen ebenso gebauten auch in den Mäusen lebenden und mit ihnen übereinstimmenden Organismus ab, den sie als den Erreger der Rattenbißkrankheit, *Spirochaeta morsus muris* beschrieben. Ob er mit unseren harmlosen Mäuseparasiten identisch ist und unter anderen Bedingungen pathogen werden kann, oder ob es nur ein unseren Mäuseparasiten sehr nahestehender Organismus ist, vermag ich noch nicht zu entscheiden. Die genannten japanischen Autoren beschreiben, daß sie einmal statt eines Endfadens an einem Ende zwei beobachtet hätten und schließen daraus auf beginnende Längsteilung.

Bei guter Dunkelfeldbeleuchtung konnte ich nun gelegentlich im Leben wahrnehmen, daß die biloparen ziemlich starken, eigenbeweglichen Endfäden dieser Mäuseparasiten keinen einheitlichen Faden darstellen, sondern ein aus feinsten Geißeln zusammengesetztes Geißelbüschel. Geißelpräparate bestätigen diese Beobachtung. Diese Endfäden sind also keine einheitlichen Endfäden wie bei Spirochäten, sondern Geißelbüschel (Fig. 31 b, c). Soweit ich Teilungen beobachten konnte, bestätigten auch sie diese Auffassung. Bei der Teilung -- es wurde bisher nur Zweiteilung beobachtet -- werden nämlich ganz ähnlich, wie oben bei den Wasservibrionen gezeigt wurde, die Geißeln in der Mitte des Organismus angelegt, und zwar als einzelne Geißeln rings um den Körper herum, so daß sie auf Präparaten seitlich zu liegen kommen (Fig. 31 d). Das Durchreißen des Körpers erfolgt bei der Querteilung an dieser Stelle zwischen dem Geißelkranz sehr schnell und die Geißeln verkleben zu einem Geißelbüschel, dessen Zusammensetzung aus einzelnen Geißeln dann nur noch gelegentlich wahrzunehmen ist. Ich glaube, daß allein schon aus dieser Art der Geißelbildung deutlich hervorgeht, daß es sich hier nicht um Spirochäten handelt, deren Endfäden ganz anderer Natur wären wie bei den anderen Spirochäten, sondern nach der Art der Geißelanlage um Bakterien, und zwar, da dieselben ein Geißelbüschel an jedem Körperende tragen, um Spirillen. Auf jeden Fall muß den beiden Organismen, der *Spirochaeta muris* und, wenn sich das gleiche Verhalten ergeben sollte, auch der *Spirochaeta morsus muris*, ein Platz außerhalb der Gattung *Spirochaeta* angewiesen werden, indem man sie entweder einer besonderen Gattung zuweist oder, was ich für richtiger halte, indem man sie zu den echten Bakterien in die Nähe der Spirillen stellt.

Dies scheint mir um so mehr geboten, als wir das Gebiet der Spirochäten als ein eigenes großes, auch morphologisch in sich Abgeschlossenes betrachten müssen und die biologische Bedeutung dieser Keime nicht geringer einzuschätzen ist, als die der Bakterien und der Protozoen. Die Spirochäten sind Saprophyten strengster Art, die im Allgemeinen von den Lebensprodukten ihrer Symbionten oder ihrer Wirtstiere ihren Unterhalt bestreiten. Sie finden sich nirgends als alleinige Erreger von Fäulnis, sondern überall dort, wo die Lebenstätigkeit anderer Gebilde, sei es bakterieller, sei es anderer Natur ihnen die für den Aufbau nötigen Produkte liefert. Sie sind immer von dem Leben anderer Gebilde abhängig, und solche Keime machen bekanntlich besonders leicht den Schritt von Saprophyten zum Parasiten. Es ist



daher nicht erstaunlich, daß die Spirochäten eine solche Anzahl von Krankheitserregern geliefert haben.

Die Spirochäten stellen einen offenbar sehr plastischen Typus von Mikroorganismen dar, der sich gerade dem Lebensgetriebe des Tierkörpers leicht anpaßt. Fast jeder der im Freien unter denselben biologischen Bedingungen vorkommende Typ hat auch einen pathogenen Typ geliefert, dessen Wirkungsweise im Tierkörper sehr spezifisch und durchaus verschieden von der Wirkung der anderen Typen ist. Es spricht daher vieles für die Annahme, daß manche Spirochätenarten erst, nachdem sie sich in der freien Natur in verschiedene Typen gesondert hatten, pathogen geworden sind. Ob bei dieser Differenzierung nicht auch Gebilde entstanden sind, die wir aus optischen oder anderen Gründen noch nicht als Spirochäten erkennen können, steht noch dahin.

#### Tafelerklärung.

Die Photogramme sind, wo nichts anderes bemerkt ist, mit Zeiß homog. Imm. 2 mm 140 Pr. Ok. 4 aufgenommen und alle gänzlich unretuschiert. Es ist die lineare Vergrößerung angegeben.

Fig. 1. Teilstück einer *Spirochaeta plicatilis*. Sublim.-Alk.-Eisenhämatoxylin. Zeiß Imm. 2 mm 130. Die regelmäßigen Primärspiralen, welche einander nicht berühren, werden von dem geraden Achsenfaden durchzogen. Lietzensee. Vergr. 1500.

Fig. 2. *Spirochaeta stenostrepta*, kurzes Exemplar mit regelmäßigen, einander berührenden Primärwindungen. Sublim.-Alk.-Eisenhämatoxylin. Fauler See. Vergr. 1500.

Fig. 3—29, mit Ausnahme von Fig. 16 und 17, 2350-fach vergrößert.

Fig. 3. Oben *Spirochaeta stenostrepta* und unten *Spirochaeta pseudoicterogenes*. Osmiumdampf. Loefflers Geißelfärbung. Größenverhältnis von *Spirochaeta stenostrepta* und *pseudoicterogenes* zueinander. Fischteich Blankenburg.

Fig. 4—15. Spirochäten vom *Pseudoicterogenes*-Typus.

Fig. 4—8 und 11—14. Osmiumdampf-Loefflers Geißelfärbung. Fig. 9, 10 und 15. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 4. Gerade gestreckte Spirochäte, deren Enden nicht differenziert oder zugespitzt sind, aus regelmäßigen Primärwindungen zusammengesetzt. Fischteich Blankenburg.

Fig. 5. Primärwindungen deutlicher wie in Fig. 4; die ganze *Spirochaeta* ist wellig gebogen und läßt zwei weite Sekundärwindungen erkennen.

Fig. 6. Gerade gestreckte, etwas steife *Spirochaeta* mit deutlichen Primärwindungen ohne besonders differenzierte Enden. Berliner Wasserleitung.

Fig. 7. Gerade gestreckte, aus Primärwindungen zusammengesetzte *Spirochaeta* mit einem hakenförmig umgebogenen Ende. Berliner Wasserleitung.

Fig. 8. Zwei ebensolche Typen wie Fig. 7. Berliner Wasserleitung.

Fig. 9. *Spirochaeta* mit geradem Mittelstück, beide Enden umgebogen, aus Primärwindungen zusammengesetzt. Berliner Wasserleitung. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 10. Ähnlicher Typ wie Fig. 9, Enden etwas stärker umgebogen. Ausfluß Teltow-Kanal. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 11. *Spirochaeta* aus regelmäßigen Primärwindungen zusammengesetzt, beide Enden umgebogen und etwas zugespitzt. Berliner Wasserleitung. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 12. Zwei ähnliche Typen wie auf Fig. 11. Berliner Wasserleitung. Osmiumdampf-Loeffler.

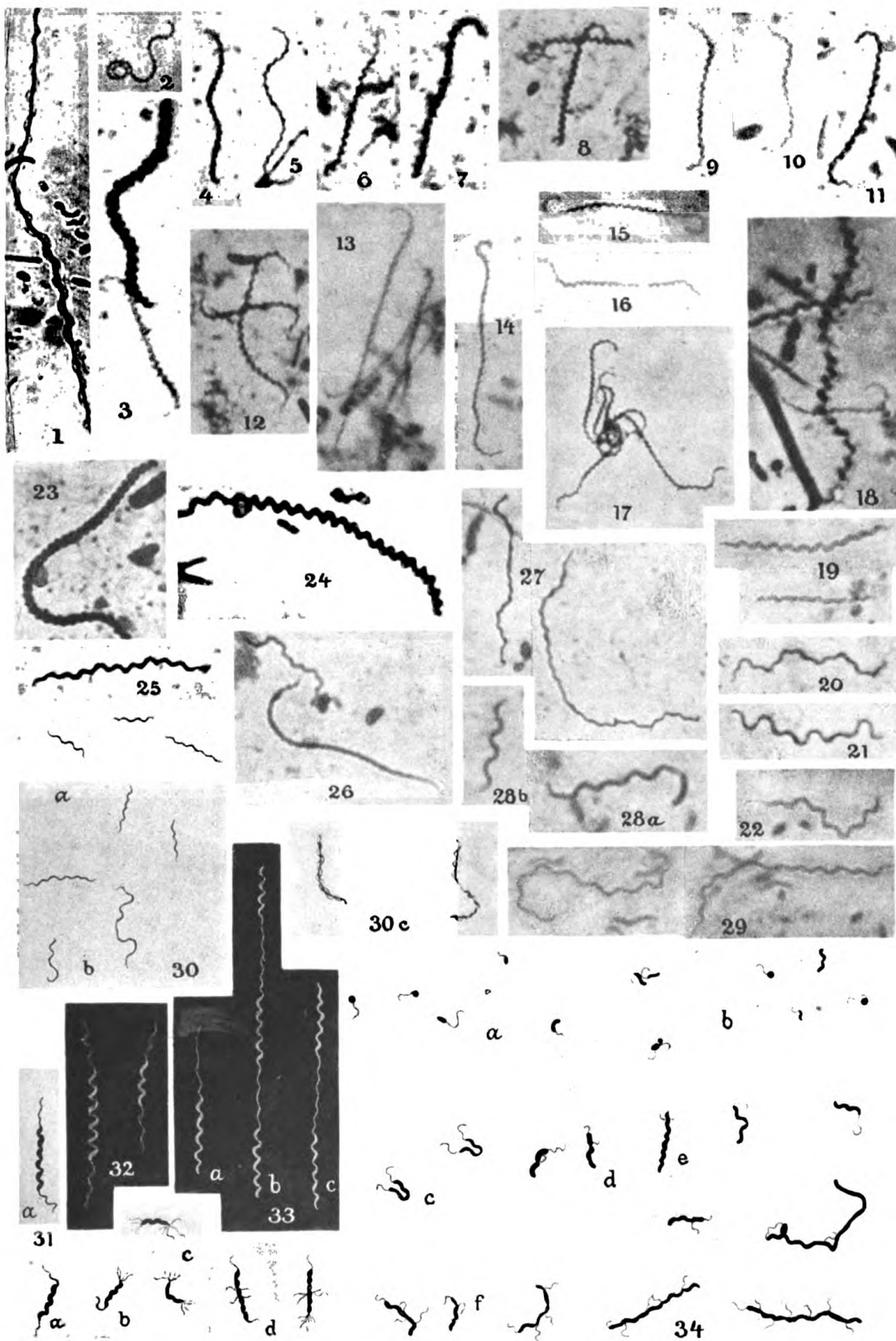
Fig. 13. Spirochäte, ähnlich wie auf Fig. 11 und 12, Enden etwas mehr umgebogen, Osmiumdampf-Loeffler. Aus der Berliner Wasserleitung stammende Spirochäten, in Serumwasser stark angereichert.

Fig. 14—15. *Spirochaeta pseudoicterogenes salina* aus dem Solgraben von Artern.

Fig. 14. Mittelstück, leicht geschlängelt, oberes Ende einfach umgebogen, unteres eingeknickt und umgebogen. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 15. Mittelstück steif, gerade gestreckt, Enden sich verjüngend und stark umgebogen. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 16. *Spirochaeta icterogenes*, gerades Mittelstück, typisch umgebogene Enden. Kultur gewaschen. Osmiumdampf-Loeffler. Vergr. 1800.



Zuelzer phot.

J. B. Obernetter, München, repr.



Fig. 17. *Spirochaeta icterogenes* zeigt die verschiedenen Windungsformen. Kultur, Osmiumdampf May-Grünwald. Vergr. 1800.

Fig. 18. *Spirochaeta stenostrepta* zusammen mit unten einer *Spirochaeta* vom *Pseudoicterogenes*- und oben einer von *Pseudopallida*-Typ, um die Größenverhältnisse zueinander zu zeigen. Teltow-Kanalausfluß. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 19. Zwei Spirochäten von *Pallida*-artigem Typ, mit stabilen, steilen, einander nicht berührenden Primärwindungen. Osmiumdampf-Giemsa. Abfluß des Absatzbeckens in Werden.

Fig. 20. *Spirochaeta* von *Recurrentis*-artigem Typ, mit regelmäßigen flachen Primär- und regelmäßigen weiten Sekundärwindungen. Fischteich Blankenburg, Loeffler.

Fig. 21—22. *Recurrentis*-artige Spirochäten.

Fig. 21 aus dem Fischteich Blankenburg. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 22 aus dem Abfluß Teltowkanal. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 23. *Spirochaeta* mit sehr steilen Primärwindungen, die einander berühren. Fischteich Blankenburg. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 24. Sehr flexile *Pallida*-artige *Spirochaeta* mit Achsenfaden und steilen Primärwindungen. Fischteich Blankenburg. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 25. Flexile Spirochäten, mit regelmäßigen flachen *Plicatilis*-artigen Primärwindungen. Fischteich Blankenburg. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 26. Unten eine *Spirochaeta* von *Pseudoicterogenes*- und oben eine vom *Recurrentis*-Typ. Fischteich Blankenburg. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 27. Sehr flexile *Spirochaeta* mit *Plicatilis*-*pallida*-artigen Primärwindungen. Osmiumdampf-Loeffler.

Fig. 28. *Spirochaeta* mit sehr weiten, lockeren Primärwindungen, aus Arterwasser stammend, a intravenös ins Meerschweinchen gespritzt; b nach dem Tode des Tieres im Peritoneum. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 29 Spirochäten aus dem Tropfkörper Stahnsdorf. Osmiumdampf-Giemsa.

Fig. 30. *Spirochaeta recurrentis* nach Zeichnungen; a und b Osmiumdampf-Giemsa:

- a) aus der Kultur, mit regelmäßigen primären Plasmawindungen;
- b) aus der Maus, locker und unregelmäßig gewunden;
- c) aus der Kultur; die regelmäßigen primären Plasmaspiralen werden von einem geraden Achsenfaden durchzogen. Sublimat-Alk.-Eisessig-Eisenhämatoxylin.

Fig. 31. Mäusepirillen. Osmiumdampf. Zettnowsche Geißelfärbung.

- a) Endgeißeln einheitlich verklebt;
- b) links einheitlich, rechts aufgespalten, läßt Geißelbüschel erkennen;
- c) an beiden Enden Geißelbüschel;
- d) zwei Teilungsformen: Anlage der neuen Geißeln in der Körpermitte, derselben seitlich anliegend.

Fig. 32. Mäusepirillen aus dem Mäuseblut, Zeichnungen nach dem Leben im Dunkelfeld.

Fig. 33. *Spirochaeta recurrentis*. Zeichnungen nach dem Leben. Dunkelfeld.

- a) Kurz nach der Teilung mit frisch gebildetem Endfaden.
- b) Dreiteilung mit den dabei entstehenden Zwischenfäden;
- c) Zweiteilung mit Zwischenfaden.

Fig. 34. Wasservibrionen. Zettnowsche Geißelfärbung.

- a) Coccoide Formen mit Geißel. Serumbouillonkultur;
- b) Vibrioform mit Geißel. Agarkultur;
- c) Zweiteilung: an jedem Ende Geißel. Agarkultur.
- d) Zwei geteilte zusammenhängende Vibrionen;
- e) Vibrionketten ohne Teilungsanzeichen. Serumbouillon.
- f) Vibrionketten: Teilungsstadien: 2, 3, 4, 5 und 7 Geißeln, seitlich angelegt, bezeichnen die Stelle, wo bei den noch einheitlichen Vibrionketten die Teilung stattfinden wird.

**27. Vortrag. Friedberger und Putter:**

**Ueber die Wirkung von feindispersen, anorganischen und organischen, in Wasser unlöslichen Substanzen auf Blutkörperchen, Komplement und Amboceptor.**

[Erschien in erweiterter Form in Bd. 30 Heft 3/4 der Zeitschr. f. Immunitätsforschung.]

**28. Nachtrag zur Diskussion über das Referat von Doerr „Das Fleckfiebertvirus und seine immunisatorischen Eigenschaften“ (vgl. S. 22\*).**

**Friedberger, Schröder und Seiffert:**

**Versuche über das Verhalten des Bazillus X 19 im Reagenzglas und Tierkörper.**

Man stand so sehr im Bann der Anschauungen von Nicolle, daß das Fleckfieber durch ein filtrierbares Virus übertragen würde, das in der Laus einen Entwicklungsgang durchmacht, daß man die von mir gegebene natürlichste Erklärung für die Weil-Felixsche Reaktion, nämlich, daß sie auf eine Infektion mit den X-Stämmen beruhe, ablehnte.

Gegenüber der von mir behaupteten Identität der X-Bazillen mit dem Fleckfiebererreger, wurde allerdings scheinbar zunächst mit Recht auf die mannigfachen Verschiedenheiten des Fleckfieberserums (Infektionsserum) und des mit X-Bazillen erzeugten Immunserums (Injektionsserum) hingewiesen.

In den genialen Versuchen der Aufspaltung der Proteus-Stämme in O- und H-Form durch Weil-Felix und bei der feineren Analyse der entsprechenden Immunsera stellte sich jedoch heraus, daß das Infektionsserum des Menschen, also das echte Fleckfieberserum, sich genau verhält, wie das mit der O-Form des X-Bazillus erzeugte Infektionsserum.

Alle Unterschiede, die von den Autoren zwischen Fleckfieberpatientenserum und X 19-Immunserum aufgestellt worden sind, fallen damit weg.

Das Fleckfieberserum ist tatsächlich identisch mit dem X 19-O-Immunserum.

Diese neueren Ergebnisse, weit davon entfernt, die scharfen Angriffe gegen meine Identifizierung des X 19 mit dem Fleckfiebererreger zu rechtfertigen, sind nur dazu geeignet, die von mir behauptete Identität zu stützen, sofern man nur annimmt, daß im Körper der Kranken die reine O-Form vorkommt.

Ein weiteres Argument, das gegen die Erregernatur des X 19 angeführt wurde, soll, wie schon erwähnt, darin bestehen, daß das Blut Fleckfieberkranker beim Meerschweinchen Immunität bedinge gegen Fleckfieberblut, nicht aber gegen X 19 und umgekehrt.

Ich habe an anderer Stelle schon auf die Schwierigkeit der Beurteilung der Infektion und mehr noch der Immunität beim Fleckfieber des Meerschweinchens hingewiesen.

Die Infektionsversuche sind zudem, soweit mir bekannt, noch nicht mit der reinen O-Form ausgeführt.

Daß Fleckfieberschweinchenblut unter Umständen beim Meerschweinchen durch die geringen Mengen darin vorhandener O-Bazillen eine latente Infektion bedingen könnte, wäre an sich ja nicht weiter verwunderlich bei einem Erreger, der, wie ich gezeigt habe, selbst in der gewöhnlichen Agarkultur für diese Tierspezies hochvirulent sein kann.

Die Tatsache, daß es gelingt, mit dem Gehirn solcher Tiere einen positiven Weil-Felix beim Kaninchen zu erzielen (Weil und Felix), spricht durchaus dafür.

Charakteristisch sind nun beim Meerschweinchen Knötchen im Gehirn, die mit denen des Menschen zum mindesten weitgehende Analogien aufweisen.

Ich sagte mir nun, daß, falls diese Gehirnveränderungen wirklich für Fleckfieber charakteristisch wären und falls sie bei der Infektion des Meerschweinchens mit menschlichem Fleckfieberblut bzw. bei den Passagen nicht durch den Bazillus X 19, sondern ein davon differentes Virus hervorgerufen würden, dieser Bazillus nicht die gleichen anatomischen Prozesse ohne weiteres auslösen dürfte.

Ein positiver Befund wäre freilich noch kein absoluter Gegenbeweis gewesen, aber mit ihm wäre doch wieder ein wesentliches Argument hinfällig, das gegen die Erregernatur des Fleckfieberbazillus ins Feld geführt wird.

Ich habe deshalb eine Reihe von Meerschweinchen mit Weil-Felix-Bazillen intraperitoneal geimpft und, um einen frühzeitigen Tod der Tiere möglichst zu vermeiden, anfangs 3 ccm Blut eines normalen Menschen zugesetzt, der während der letzten 10 Jahre nicht aus Greifswald herausgekommen war und während dieser Zeit nie krank gewesen war.

Der Blutzusatz erfolgte, um die Versuche denen mit menschlichem Fleckfieberblut ähnlicher zu gestalten, vor allen Dingen aber auch, wie gesagt, um die tödliche Infektion mit dem Bazillus Weil-Felix zu verhüten.

Die Tiere wurden zu verschiedenen Zeiten entblutet, oder es wurde nach dem spontanen Eingehen das Gehirn untersucht. Die histologischen Untersuchungen wurden von meinem Mitarbeiter Herrn Prof. Schröder im Laboratorium der Nervenlinik vorgenommen.

Als Kontrollmaterial dienten Gehirne von Meerschweinchen, die 1 Jahr vorher mit Fleckfieberblut behandelt und eingegangen oder getötet waren.

Von 9 solchen Tieren hatten 3 = 33 Proz. die Knötchen; von 17 mit Kultur, mit und ohne Blut behandelten Tieren waren 3 = 17 Proz. positiv, wie die nachstehende Tabelle ergibt.

Rechnen wir die Tiere Nr. 11, 6 nicht mit, so haben wir von 15 3 = 20 Proz. positiv.

Daß das Blut allein ohne Wirkung ist, zeigen Versuche 11 und Z. 12.

Die Knötchen sind weniger zahlreich als bei der Infektion mit Fleckfieberblut und auch größer. Zum Teil enthalten sie Bazillen, zum Teil sind sie frei davon und unterscheiden sich dann nach den bisherigen Untersuchungen im übrigen nicht von den mit Fleckfieberblut erzeugten.

Es finden sich also bei mit X 19 geimpften Meerschweinchen Veränderungen im Gehirn, die mit denen, wie sie durch Blutinjektion und durch Passage bedingt werden, zum mindesten die weitgehendste Ähnlichkeit haben und hier für Fleckfieber als charakteristisch gelten.

Bei Impfung der Meerschweinchen mit Diphtherie und Tuberkel-

Tabelle 1.

Tier-Nr.	Gewicht in g	Behandlung			Tot resp. entblutet nach Tagen	Hirn- befund
		Injektion mit	Menschen- blut	Injektion		
WF 1	200	$\frac{1}{10}$ <sup>1)</sup> ♀ X 19	—	iv.	2 tot	⊖
WF 2	240	$\frac{1}{5}$ ♀ X 19	—	„	2 „	⊖
WF 3	220	$\frac{1}{5}$ ♀ X 19	3 ccm	ip.	2 „	positiv
4	270	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19	3 „	„	13 entbl.	⊖
5	250	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19	3 „	„	6 „	⊖
6	260	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 60°	3 „	„	13 „	⊖
7	240	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O	3 „	„	6 „	⊖
8	240	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O	3 „	„	2 tot	⊖
9	270	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O	3 „	„	13 entbl.	⊖
10	230	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O	3 „	„	20 „	⊖
11	230	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 60°	3 „	„	6 „	⊖
12	230	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19	3 „	„	20 entbl.	positiv
13	230	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O Pex	—	„	1 tot	?
14	290	$\frac{1}{10}$ ♀ X 19 O Pex	—	„	12 entbl.	?
Kultur						
Z 10	230	3 ♀ Karbol O	—	„	1 tot	⊖
Z 11	245	0,5 Pex Z 10	—	„	7 St. tot	⊖
Z 12	245	1 ♀ Pex Kult. Z 11	—	„	12 St. tot	positiv
Kontrollen mit Fleckfieberblut						
35	220	3 ccm Fl.-Blut	—	ip.	14 entbl.	⊖
36	200	dgl.	—	„	14 „	⊖
38	210	„	—	„	19 „	positiv
39	200	„	—	„	18 tot	„
40	190	„	—	„	25 entbl.	⊖
51	170	0,3 Gehirn Nr. 38	—	„	9 tot	⊖
53	180	dgl.	—	„	12 entbl.	positiv
54	130	„	—	„	29 „	⊖
55	305	„	—	„	30 „	⊖

bazillen konnten wir keine Knötchen nachweisen, ebensowenig bisher bei Kaninchen, die mit Weil-Felix-Bazillen infiziert waren.

Aus diesen Versuchen kann man nicht schließen, daß X 19 der Erreger ist, sondern nur daß ein Argument, das gegen die Erregernatur angeführt wird, hinfällig ist.

Ich will nun über weitere Versuche berichten, die Herr Seiffert unter meiner Leitung angestellt hat, und die er ausführlicher in seiner Inaugural-Dissertation<sup>2)</sup> veröffentlichen wird.

Die Tatsache, daß das Infektionsserum reines O-Serum und mit dem O-Immunserum identisch ist, legt es nahe, anzunehmen, daß im Körper nur O vorkommt, oder richtiger antigene Qualitäten entfaltet, denn vorkommen muß auch H, da ja gerade diese Form wiederholt aus dem Körper gezüchtet ist.

1) ♀ = Oese, X 19 = gewöhnliche Form, O = Form des X 19, Pex = Peritonealexsudat, Pex-Kultur = Kultur aus Peritonealexsudat.

2) Seiffert, W., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der schwärmenden und der nicht schwärmenden Form des *Proteus* X 19. Inaugural-Dissertation, Greifswald 1920; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 30. Heft 5/6.

Oder man muß annehmen, daß Körper „O“ auf künstlichen Nährboden leicht in „H“ übergehen kann, was an sich nicht ohne weiteres wahrscheinlich ist, da ja die natürliche O-Form nach Weil und Felix annähernd konstant ihre Merkmale auch auf künstlichem Nährboden behält.

Allerdings haben andererseits schon Weil und Felix sowie Braun festgestellt, daß unter gewissen Bedingungen (z. B. im Brutschrank, Braun) die „O“-Kulturen die Tendenz haben in „H“ umzuschlagen. Das wäre eine gewisse Analogie mit dem Verhalten im Körper, wo ja auch auf der Höhe des Fiebers die H-Formen gezüchtet sind.

Wir selbst aber haben gesehen, daß zuweilen auch schon bei 24-stünd. Bebrütung aus einer scheinbar konstanten O-Form plötzlich ohne äußeren Anlaß sich H-Kolonien entwickeln. Es kommt also offenbar ein spontaner Umschlag von O in H vor, und deshalb ist auch die Züchtung von H-Form aus dem Organismus in keinem Fall unmöglich, selbst wenn man annimmt, daß im Körper nur die O-Form vorkommt.

Uebrigens konnten wir auch im Reagenzglas ohne äußere Ursache einen Uebergang von H- in O-Form beobachten, und zwar nicht nur bei den X-Stämmen, sondern auch bei anderen *Proteus*-Stämmen gleichzeitig zu Anfang des Januar.

Ob hier die Jahreszeit einen Einfluß hat?

Das Alter der Kulturen (Weil) war ohne Einfluß, denn es handelte sich bei unseren Versuchen um ganz frische Kulturen.

Versuche über das Verhalten der O- und H-Formen beim Wachstum sind seither nur auf künstlichen Nährböden angestellt (Weil, Braun und Salomon, Joetten).

Es fehlen ganz die ausschlaggebenden Versuche über das Verhalten beider Bakterienformen im normalen und immunisierten Körper.

Schon bei der Züchtung der X-Bakterien in Bouillon, die mit Kaninchen-Immunserum, Fleckfieberkrankenserum, sowie mit normalem Serum versetzt war, ergab sich bei den H-Formen eine Tendenz zur O-Formbildung, die aber bis zur ausgesprochenen Unterdrückung der H-Form nur im Serum des Fleckfieberkranken gelang, nicht im Kaninchen-Immunserum.

Tabelle 2.

Form	Wachstum der einzelnen Rassen des X 19-Bazillus gezüchtet aus Bouillon versetzt $\frac{1}{100}$ mit				
	—	N. K. S.	N. Mensch S.	J. K. S.	Fl. S.
H	1.—7. Tag Hauch	1.—3. Tag Hauch + Baumringe 4.—5. Tag verzögerter Hauch 6. Tag $\pm$ hauchlos	wie in N.K.S.	wie in N.K.S.	schnellere und intensivere Entstehung der Tröpfchen 6.—7. Tag nur Tröpfchen
Karbol O	1.—7. Tag Hauch				
natürl. O	1.—7. Tag hauchlos	1.—7. Tag hauchlos	1.—6. Tag hauchlos 7. Tag beginnender Hauch	1.—6. Tag hauchlos 7. Tag beginnender Hauch	hauchlos
Pex O	1.—7. Tag Hauch	1. Tag Hauch 2.—7. Tag hauchlos	1. Tag Hauch	1. Tag Hauch 2.—7. Tag hauchlos	1. Tag Hauch



Die Tierversuche selbst zeigten, daß auch im Tierkörper, namentlich bei fortlaufenden Passagen, die H-Tendenz immer mehr zurücktritt.

Bei mit X 19 vorbehandelten Tieren bereitet das schnelle Verschwinden der eingespritzten Bazillen gewisse Schwierigkeiten, doch scheint die Tendenz zur Bildung der O-Form nicht stärker als bei normalen Tieren.

Die Tabellen 2, 3 und 4 bringen einige entsprechende Versuche.

Tabelle 3.

Platte	Peritonealimpfung, Meersch. Z I (265 g) mit $\frac{1}{2}$ ♀ Karbol O ip.	
	Zeit der Exsudatentnahme nach der Infektion	Kultur auf Agarplatte
1	sofort	isolierte Tröpfchen
2—3	$\frac{1}{2}$ —1 Std.	isolierte Tröpfchen
4	2 „	reine Tröpfchen + Uebergangsformen
5—6	3—5 „	Hauch um einzelne Tröpfchen deutlich ausgeprägt
7—8	9—20 „	typischer, kräftiger Hauch, darin deutlich Tröpfchen
9	24 „	zahlreiche Tröpfchen, daneben deutliche Hauchbildung, nicht so kräftig wie auf Platte 8
10—11	45—50 „	Kolonien spärlicher, Schwarmtendenz ganz gering
12	70 „	einige wenige Tröpfchen, kein Hauch
13	84 „	kein Wachstum

Tabelle 4.

Platte	Peritonealimpfung, Meersch. Z II (280 g) mit $\frac{1}{2}$ ♀ X 19 H-Form ip.	
	Zeit der Exsudatentnahme nach der Infektion	Kultur auf Agarplatte
1	sofort	dichtes Schwärmen der Kolonien
2—3	$\frac{1}{2}$ —1 Std.	dichtes Schwärmen
4—6	2, 3—5 Std.	Hauch allmählich zarter, dehnt sich aber noch über die ganze Platte aus
7	9 Std.	räumliche Ausbreitung läßt nach
8—10	24—45 Std.	nur noch vereinzelte Schwarmkolonien
11	70 Std.	kein Wachstum

# Mitglieder-Liste

der

Freien Vereinigung für Mikrobiologie.

(Dezember 1920).

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
1	Abel	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Jena	Hygien. Institut
2	Baerthlein	Reg.-Med.-Rat, Privatdozent	Würzburg	Versorgungslazarett
3	Bail	Professor	Prag	Hygien. Institut
4	Ballner		Preßburg	Isabellagasse 5
5	Beck, M.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Stade	Med. Unters.-Amt
6	Besserer	Professor	Münster i. W.	
7	Biedl	"	Prag	Institut für exper. Pathol. der dt. Univ., Krankenhausgasse
8	Bieling, R.	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Weidmannstr. 43
9	Bierbaum	Dr. med. vet.	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochschule
10	Bischoff	Generaloberarzt, Prof.	Spandau	Stresowplatz
11	Bitter	Professor	Kiel	Hygien. Institut
12	Bongert		Berlin W. 50	Pragerstraße 11
13	Bonhoff, H.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Marburg	Hygien. Institut
14	Braun	Professor	Frankfurt a. M.	
15	Breßlau, E.	"	Frankfurt a. M.	Georg Speyer-Haus
16	Březina	Privatdozent	Wien	Staatsamt f. Volksgesundheit
17	Bruns, H.	Professor	Gelsenkirchen	Institut f. Hyg. u. Bakteriöl.
18	Bugge	Vorsteher	Kiel	Bakt. Inst. f. Tierseuchen
19	Burri	Professor	Bern	Auf dem Liebefeld
20	Bürgers	"	Düsseldorf	Hyg. Inst. d. Akademie
21	Conradi, H.	"	Dresden-A	Landes-Gesundheitsamt
22	Czaplewski	"	Köln a. Rh.	Vorgebirgstr. 19
23	Dietrich	"	Köln-Lindenthal	Pathol. Institut
24	Doerr	"	Basel	Hygien. Institut
25	Doflein	"	Breslau	Zoologisches Inst.
26	Dold	"	Frankfurt a. M.	Inst. f. exper. Therapie
27	v. Drigalski	"	Halle a. Saale	Stadtarzt
28	Dunbar	"	Hamburg 36	Hygien. Institut
29	v. Dungern, Freih.	"	Ludwigshafen a. Bodensee	—
30	Eichholz, Wilhelm	Dr. med.	Darmstadt	Kekuléstr. 6
31	v. Eisler	Professor	Wien	Serotherap. Institut
32	Erdmann, Rhoda	Privatdozentin	Berlin-Wilmersd.	Nassauische Str. 17
33	Ficker	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. experim. Therapie
34	Flügge	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 7	Hygien. Institut
35	Fornet	Dr. med.	Marburg a. Lahn	Behringwerk
36	Friedberger	Professor	Greifswald	Hygien. Institut
37	Friedemann	"	Berlin	Rud. Virchow-Krkh.

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
38	Fromme	Professor	Witten a. R.	Stadtarzt
39	Frosch	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochschule
40	Fülleborn	Professor	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
41	Gärtner, A.	Geheimer Rat, Prof.	Jena	Magdelstieg 2
42	Gehrke	Direktor	Stettin	Städt. Gesundheits-Amt
43	Gerlach, Franz	Direktor-Stellvertreter	Mödling b. Wien	Staatl. Tierimpfstoffgewinnungs-Anstalt
44	Ghon	Professor	Prag	Pathol.-anat. Inst.
45	Gildemeister, E.	Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
46	Gins, H. A.	Abteilungsleiter	Berlin N. 39	Institut „Rob. Koch“
47	Glage	Obertierarzt, Prof.	Hamburg	Bakt. Stat. d. Veterinärwesen
48	Gotschlich, E.	Professor	Gießen	Hygien. Institut
49	Grassberger		Wien IX	„ „
50	v. Gruber	Geheimer Rat, Prof.	München	„ „
51	Günther	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berl.-Lichterfelde	Hindenburgdamm 122
52	Haendel	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berl.-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
53	Hahn	Geh. Hofrat, Prof.	Freiburg i. B.	Hygien. Institut
54	Hailer	Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
55	Hartmann, M.	Professor	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. Biologie
56	Hartoch	Dr. med.	Petersburg	—
57	Heim, L.	Professor	Erlangen	Hygien. Institut
58	Heymann	Prof., Privatdozent	Berlin NW. 7	„ „
59	Heller	Professor	Dresden-A.	An der Mauer 2
60	Helly	„	St. Gallen (Schweiz)	Museumstr. 45.
61	Hetsch	„	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
62	Hilgermann	„	Saarbrücken 1	Inst. f. Hyg. u. Bakt.
63	Hoffmann, Wilh.	Professor	Berlin C. 2	Städt. Med.-Unters.-Amt
64	Hoffmann, Erich	„	Bonn	Klin. f. Haut- u. Geschlechtsk.
65	Hübener	„	Luckenwalde	Karlstraße 40
66	Hübschmann	„	Leipzig	Johannisallee 9
67	Hüne	Oberstabsarzt a. D.	Jena	An der Schweizerhöhe Nr. 1
68	Huntemüller	Prof., Privatdozent	Gießen	Frankfurterstr. 101
69	Hüppe	Hofrat, Prof.	Dresden-A. 7	Eisenstockstr. 28
70	Jaeger	Professor	Coblenz	Trierstr. 115
71	Jacobitz	„	Beuthen i. O. Schl.	Hygien. Institut
72	Jacobsthal	Privatdozent	Hamburg	Krankenhaus St. Georg
73	Joest	Obermedizinalrat, Prof.	Dresden-A.	Tierärztl. Hochschule
74	Joetten, Karl W.	Privatdoz.	Leipzig	Windmühlenweg 23 1
75	Joseph, K.	Dr. med. vet.	Höchst a. M.	Farbwerke
76	Kaiser	Stabsarzt	Altona	Schubertstr. 3
77	Kathe	Professor	Breslau 16	Med.-Unters.-Amt
78	Kersten, H. E.	Medizinalrat	Münster i. W.	„ „
79	Kirchner	Wirkl. Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof.	Berlin W. 30	„Landshuterstr.“ 35
80	Kirstein	Professor	Hannover	Med.-Unters.-Amt
81	Kisskalt	„	Kiel	Hygien. Institut
82	Kister	„	Hamburg	„ „
83	Kleine, F. K.	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
84	Klemensiewicz	Professor	Graz	Merangasse 9
85	Klimmer	Obermedizinalrat, Prof.	Dresden	Reinickstr. 7
86	Klose	Stadtarzt	Wittenberge	Bahnstraße 15
87	Knuth	Professor	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochschule
88	Koch, Jos.	„	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
89	Kolle, W.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
90	Konrich	Reg.-Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 40	Scharnhorststr. 35
91	Kossel, H.	Geh. Hofrat, Prof.	Heidelberg	Hygien. Institut
92	Kraus	Professor	Buenos-Aires	Instituto Bacteriol. nac.
93	Krause	Geh. Med.-Rat, Prof.	Bonn	Med. Poliklinik
94	Krumbein	Professor	Bern	Hygien. Institut
95	Kruse	Geh. Med.-Rat, Prof.	Leipzig	„ „
96	Kuhn, Ph.	Professor	Dresden-A.	Zellesche Str. 28
97	Küster, E.	Reg.-Rat, Prof.	Oberursel/Taunus	Pharmaz. Inst. v. L. W. G.

Fr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
38	Kutscher	Kreisarzt	Berlin SO. 33	Schlesischestr. 21
39	Landmann	Dr. med.	Darmstadt	Chem. Fabr. E. Merck
40	Landsteiner	Professor	s'Gravenhage (Holl.)	van Sligelandtstraat 39
41	Lange, Ludwig	Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
42	Lehmann	Geh. Hofrat, Professor	Würzburg	Hygien. Institut
43	Lentz	Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof., Ministerialrat	Berlin W. 66	Leipzigerstr. 3
44	Lichtenheld	Regierungs- u. Veterinärarzt	Weimar	Carl Alexanderstr. 11
45	v. Lingelsheim	Geh. Med.-Rat, Prof.	Beuthen (O.-Schl.)	Hygien. Institut
46	Lockemann	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
47	Lorenz	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Darmstadt	Mathildenpl. 17
48	Lührs	Prof., Oberstabsveterinär	Berlin-Dahlem	Fabeckstr. 43
49	Maassen	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Steglitz	Breitestr. 2
50	Mandelbaum	Dr. med.	München	Krankenhaus Schwabing
51	Manteufel	Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
52	Marmann	Kreisarzt	Trier	Med.-Unters.-Amt
53	Markl	Reg.-Rat	Prag	Ministerium f. Volksgea.
54	Martini, E.	Professor	Berl.-Wilmerad.	Holsteinische Str. 28
55	Marx, E.	"	Frankfurt a. M.	Myliusstraße 59
56	Meinicke, Ernst	Direktor	Ambrock (Hagen)	Volksheilstätte
57	Messerschmidt, Th.	Privatdozent	Hannover	Baumstr. 3 A.
58	Meyer	Professor	Bremen	Hygien. Institut
59	Meyer, Kurt	Abteilungsvorsteher	Berlin	Rud. Virchow-Krkh
60	Mießner	Professor	Hannover	Tierärztl. Hochschule
61	Möllers, B.	Reg.-Rat, Prof.	Berlin NW. 23	Kloppstockstr. 18
62	Morgenroth	Geh. Med. Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Rob. Koch“
63	Mohrmann	Kreisarzt	Coblenz	Med.-Unters.-Amt
64	Much	Professor	Hamburg-Eppendorf	Krankenhaus
65	Mühlens	"	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
66	Müller, Reiner	"	Köln-Lindenthal	Theresienstr. 68
67	Musehold	Obergeneralarzt a. D.	Berl.-Lichterfelde	Sternstr. 43
68	Neißer	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Hygien. Institut
69	Neufeld, F.	"	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
70	Nocht	Obermedizinalrat, Prof.	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
71	Noetel	Abteilungsvorsteher	Landsberg a. W.	Hygien. Institut
72	Oettinger	Professor	Charlottenburg	Krankenh. Westend
73	Orth	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 6	Pathol. Institut
74	v. Ostertag	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin W. 35	Schöneberger Ufer 12a
75	Otto, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Rob. Koch“
76	Overbeck	Generaloberarzt a. D.	Schwerin i. Meckl.	Brangewürzstr. 6
77	Paltauf	Prof., Hofrat	Wien	Serotherapie Inst.
78	Paschen	Prof., Oberimpfarzt	Hamburg	Alte Rabenstr. 14
79	Petruschky	Professor	Danzig-Langfuhr	Techn. Hochschule
80	Pfeiffer, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Breslau	Hygien. Institut
81	Pfeiffer, L.	Geh. Obermedizinalrat, Prof.	Schwerin i. Meckl.	Schelfstr. 29
82	Pick, E. P.	Professor	Wien IX	Pharmakol. Inst.
83	Plaut, H. C.	"	Hamburg	Neue Rabenstr. 21
84	Plehn	"	Berlin W. 62	Kleiststr. 22
85	Prausnitz	Prof., Privatdozent	Breslau	Hygien. Institut
86	Pribram, Ernst	"	Wien IX	Zimmermannsgasse 3
87	Pusch	Kreisarzt	Danzig	Med.-Unters.-Amt
88	Raubitschek	Professor	Czernowitz (Rum.)	Pathol. Institut
89	Reichl	Professor	Wien IX	Hygien. Institut
90	Reichenbach	Geh. Med.-Rat, Prof.	Göttingen	"
91	Reiter	Prof., Privatdozent	Rostock i. Meckl.	"
92	Rimpau	Prof., Direktor	München	Bakt. Unters.-Anst.
93	Rosenthal, W.	Prof., Privatdozent	Göttingen	Hygien. Institut
94	Roth	Professor	Zürich	Hyg. Inst. d. Techn. Hochschule

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
155	Rothermundt	Privatdozent	Dresden	Dt. Kaiser-Allee 5
156	Ruß	Professor	Wien IX	Sensengasse 2
157	Ruge	Mar.-Obergeneralarzt a. D. Prof.	Klotzscheb. Dresd.	Bahnhofstr. 6
158	Ruppel	Professor	Berlin SW. 68	Lindenstr. 35
159	Ruppert	Dr. med. vet.	Frankfurt a. M.	Georg Speyerhaus
160	Sachs, H.	Professor	Heidelberg	Krebsinstitut
161	Schattenfroh	"	Wien IX	Hygien. Institut
162	Scheller	Prof., Privatdozent	Breslau	Inst. „Robert Koch“
163	Schiemann, O.	Abteilungsleiter	Berlin N. 39	
164	Schilling	Professor	Berlin N. 39	Inst. f. experim. Therapie
165	Schloßberger	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Hygien. Institut
166	Schmidt, Paul	Professor	Halle a. S.	Veterinärstr. 6
167	Schmitt		München	
168	Schmorl	Geh. Med.-Rat, Prof.	Dresden	Städt. Krankenhaus Friedrichstadt
169	Schnürer, Jos.	Professor	Wien III	Tierärztl. Hochschule
170	Schuberg	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
171	Schürmann	Privatdozent	Halle a. S.	Hygien. Institut
172	Seitz	Professor	Leipzig	" "
173	Selter	"	Königsberg i. Pr.	" "
174	Silberschmidt	"	Zürich	" "
175	Sobernheim	"	Bern	Inst. z. Erf. d. Infektionskr.
176	Sommerfeld	"	Berlin W. 15	Kaiserallee 201
177	Stempel	"	Münster i. W.	Nordstr. 34
178	Sticker	"	Berlin N. 24	Chirurg. Klinik Ziegelstraße
179	Tiede	Leiter des bakt. Inst.	Köln	Schlachthof
180	Titze	Geh. Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
181	Tjaden	Obermedizinalrat, Prof.	Bremen	Dobben 91
182	Trommsdorff, R.	Privatdozent	München	Bavariaring 20
183	Uhlenbuth	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	z. Zt. Reichs-Gesundheitsamt
184	Ungermann	Reg.-Rat, Abteilungsleiter	Berlin N. 39	Inst. „Rob. Koch“
185	Wagner	Privatdozent	Jena	Hygien. Institut
186	v. Wasielewski	Professor	Rostock i. Meckl.	Hygien. Institut
187	v. Wassermann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin-Dahlem	Kaiser Wilh.-Inst. f. exp. Ther.
188	Weber	Geh. Reg.-Rat, Präsident	Dresden	Landesgesundheitsamt
189	Weichardt	Professor	Erlangen	Hygien. Institut
190	Weidanz	Kreisarzt	Bremen	—
191	Weleminsky	Privatdozent	Prag-Smichow	Königstr. 58
192	Wernicke	Geh. Med.-Rat, Prof.	Landsberg a. W.	Hygien. Institut
193	Woithe	Reg.-Rat, Direktor	Dresden-A.	Hygiene-Museum
194	Wolff	Professor	Tübingen	Hygien. Institut
195	v. Wunschheim	San.-Konsulent	Wien I	Volksges.-Amt im Bundesministerium
196	Zuelzer, Marg.	Reg.-Rat	Berlin-Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
197	Zwick	Professor	Gießen	Universität

Inzwischen verstorben: Geheimer Rat Prof. Dr. Hofmann, Leipzig.  
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Schütz, Berlin.

Berichtigung: Seite 63\*, Zeile 8 von unten ist zu lesen: 9. September (statt: 9. Okt.).

# Inhaltsverzeichnis.

## I. Verzeichnis der in Band 85 enthaltenen Arbeiten.

- Abel**, Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit des Herrn Prof. Dr. Bitter-Kiel. 349
- Alagna, G.**, Beitrag zur Aetiologie und feinen Struktur des Rhinoskleroma. 38
- Bach, F. W.**, Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens. 306
- Baumgärtel, Tr.**, Zur Technik der Komplementgewinnung mittels Herzpunktion. 281
- Bericht über die 8. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie vom 8. bis 10. Sept. 1920 in Jena. 1\*
- Bernhard, H.**, Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung einiger neuer Silberpräparate. 46
- Bitter, Ludwig**, Die Aetiologie und Epidemiologie des Paratyphus B und der sogenannten Fleischvergiftungen. 68\*
- Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen und serologischen Typhusdiagnose. 339
- Entgegnung auf die vorstehenden Bemerkungen des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Abel. 351
- Zur Epidemiologie der durch Paratyphus B-Bakterien verursachten Erkrankungen in Schleswig-Holstein. 110
- Bresslau, E.**, Experimentelles über Hüllbildung bei Ciliaten. 42\*
- Burekhardt, J. L., u. Koby, Ed.**, Die Verwendung der Spaltlampe für die experimentelle Pockendiagnose am Kaninchenaugen. 299
- Czaplewski**, Zur Bakteriologie der Ruhr. 105\*
- Doerr**, Das Fleckfiebertvirus und seine immunisatorischen Eigenschaften. 2\*
- Dold, Hermann, u. Fischer, Walter**, Ein Fall von natürlich erworbener, bazillärer Dysenterie beim Hunde (mit gleichzeitiger Schistosomiasis, Ankylostomiasis und Filariosis). 198
- Fischer, Walter s. Dold, Hermann.**
- Friedberger u. Putter**, Ueber die Wirkung von feindispersen, anorganischen und organischen, in Wasser unlöslichen Substanzen auf Blutkörperchen, Komplement und Ambozeptor. 168\*
- Friedberger, Schröder u. Seiffert**, Versuche über das Verhalten des Bazillus X 19 im Reagenzglas und Tierkörper. 168\*
- Gildemeister, E. s. Haendel, L.**
- Haendel, L., Gildemeister, E., u. Schmitt, H.**, Ueber Auswertung von Vakzine und Vakzineimmunseris. 126\*
- Hase, Albrecht**, Zur Frage des „Lebendiggebärens“ der Kleiderlaus“. Eine Klarstellung. 377
- Hetsch u. Schlossberger**, Biologische Eigenschaften der bei der Wunddiphtherie gefundenen Diphtheriebazillen. 66\*
- Huebschmann**, Demonstration zur Färbung der Ruhramöben. 122\*
- Ihle, J. E. W.**, Bemerkungen über die Gattungen Cylicostomum, Poterostomum und Craterostomum. 267
- Das Männchen von Cylicostomum ultrajectinum. 372
- v. Jettmar, H.**, Studien über die Konglutination und über das Schwanken des Konglutiningehaltes im Serum gesunder und kranker Rinder. (Vorläufiger Bericht.) 221
- Joetten**, Neuere Forschungen über Gonokokken. 126\*
- Kallert, E. s. Standfuss, R.**
- Kersten, H. E. s. Lange, Ludwig.**
- Klinger, R.**, Zur Aetiologie der Aktinomykose. 357
- Knauer, Sigfrid**, Beobachtungen über Typhusbazillenträger. 237
- Koby, Ed. s. Burekhardt, J. L.**
- Koch, Jos.**, Zum Mechanismus der peritonealen Infektion, Transsudation und Resorption unter besonderer Berücksichtigung der Tätigkeit des großen Netzes (Omentum majus). 99\*
- Konrádi, Daniel**, Die Vererbung der Immunität gegen Lyssa. IV. Mitteilung. Beitrag zur Kenntnis der Heilung der Wut. 359
- Kuczynski u. Wolff**, Pathogenetische Streptokokkenstudien. 124\*
- Küster, Emil, Lange, Ludwig, u. Pott-hoff, Paul**, Ueber Säureagglutination. 132\*
- Küstner, H. s. Prausnitz.**
- Lange, Ludwig**, Ueber Tuberkuloseimmunisierungsversuche. 20\*
- s. Küster, Emil.
- u. Kersten, H. E., Ueber einige Beobachtungen bei chronischer Meerschweinchentuberkulose. 32\*
- Lichtenstein, Stefanie**, Ein Fall von spontaner Froschtuberkulose. 249
- v. Linden, Gräfin**, Die entwicklungshem-

- mende Wirkung von Kupfersalzen auf Krankheit erregende Bakterien. 136
- Loewenhardt, Felix E. R., Zur Aetiologie der Influenza. 81
- Lubinski, Herbert, Bakteriologische Untersuchungen über Wunddiphtherie. 96
- Zur Frage der atypischen *Lyssa humana*. 252
- Lührs, Rotz. 76\*
- Manteufel, P. s. Uhlenhuth, P.
- Messerschmidt s. Uhlenhuth.
- Meyer, Zum Nachweis der Milzbrand-erreger im Fischmehl. 177
- Meyer, Franz s. Reiter, Hans.
- Mießner, Die Bedeutung der Präzipitations- und Komplementbindungsmethode zur Diagnostik der Lungenseuche. 121\*
- Mönnig, H. O., *Filaria nycticebi*. Eine neue *Filaria* aus dem *Nycticebus*. 216
- Much, Fettantikörper. 63\*
- Ohira, Toshinobu, Ueber die bakterizide Wirkung des Urotropins. 63
- Olsen, Otto, Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918—19—20. II. Mitteilung. 12
- Untersuchungen über den Pfeifferschen Bazillus. III. Mitteilung. 354
- Osterwald, Hans, u. Tänzer, Ernst, Ein Jahr Anophelenbeobachtung. 42
- Petrushky, Bekämpfung der Tuberkulose im Kindesalter. 35\*
- Pfannenstiel s. Schlossberger.
- Pfeiffer, R., Influenza. 43\*
- Pfeiler, W., Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und den Pfeiler-Rehsechen Hühner-typhusbazillus. 193
- Plasaj, St., u. Pribram, E., Ueber die Eigenbewegung und Begeißelung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. 113\*
- Plasaj, St. s. Pribram, E.
- Plehn, Marianne, Neue Parasiten in Haut und Kiemen von Fischen. 275
- Pothhoff, Paul s. Küster, Emil.
- Prausnitz, Carl, Bakteriologische Untersuchungen über Schweinerotlauf beim Menschen. 362
- u. Küstner, H., Untersuchungen über die künstliche Uebertragung der Ueberempfindlichkeit gegen Fischeiweiß und andere artfremde Eiweißkörper. 122\*
- Pribram, E., u. Plasaj, St., Zur Systematik der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. 117\*
- Pribram, E. s. Plasaj, St.
- Putter s. Friedberger.
- Rahner, Richard, Die Biologie der Oxyuren. 374
- Reichenow, Eduard, Ueber das Vorkommen der Malaria Parasiten des Menschen bei den amerikanischen Menschenaffen. 207
- Reichert, Fr., Beitrag zur Aetiologie der Encephalitis lethargica. 261
- Reiter, Hans, u. Meyer, Franz, Untersuchungen über die Grundlagen des *Bolus alba*-Verfahrens. 284
- Rosenblath, Ein Fall von Balantidien-erkrankung. 257
- Rösenthal, W., Phagozytose durch Endothelzellen. 126\*
- Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXIII. Mitteilung. (Hufkrebs-Geschwulst. — Botryomykom. — Plexus-Cholesteatom. — Melanosarkom des Auges und Gliosarkom des Auges.) 126
- Schlossberger s. Hetsch.
- u. Pfannenstiel, Ueber die Differenzierung säurefester Bakterien. 25\*
- Schmitt, Hans s. Haendel, L.
- Schröder s. Friedberger.
- Schussnig, B., Beitrag zur Zytologie der Schizomyceten. 1
- Seiffert s. Friedberger.
- Seyfarth, Carly, Parasiten im Pankreas. (Ascariden, Cestoden, Echinokokken, Distomen). 27
- Standfuss, R., u. Kallert, E., Ein neuer Bakteriennährboden. 223
- Stokvis, C. S., Desinfektion bei künstlich erniedrigtem Kochpunkte unter Anwendung flüssiger Desinfizientia. 166
- Stempel, Rudolf, Beobachtungen bei Dysenterie. 68
- Tänzer, Ernst s. Osterwald, Hans.
- Titze, C., Beitrag zur Bedeutung der Fleisch- und Milchnahrung als Ursache tuberkulöser Infektionen. 23\*
- Toennissen, E., Ueber eine neue Methode, Nukleoproteide aus Bakterien zu gewinnen. 379
- Untersuchungen über die Kapsel (Gummihülle) der pathogenen Bakterien. II. Die chemische Beschaffenheit der Kapsel und ihr dadurch bedingtes Verhalten gegenüber der Fixierung und Färbung. 225
- Uhlenhuth, Gutachten über einige Handelspräparate von bakteriellen Ratten- und Mäuse-Vertilgungsmitteln. 186
- P., u. Manteufel, P., Zur Kenntnis der Geflügelpocken. 366
- u. Messerschmidt, Zur experimentellen Chemotherapie der Typhus-bazillenträger und Gallenblaseninfektionen. 125\*
- u. Zuelzer, Zur Epidemiologie der Weilschen Krankheit — zugleich ein Beitrag zur Frage der freilebenden Spirochäten (Icterogenes-ähnliche und andere). 141\*
- Vogel, R., Ein *Cysticercus* des Regenwurmes als Jugendform der Vogeltänie *Dilepis undula* (Schränk). 370
- Voigt, Gerhard, Untersuchungen über die praktische Verwendbarkeit der Anreicherungs-methode mittels *Antiformin* zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum. 121
- Wagner, Zur biologischen Bewertung der Typhoideen. 71\*

Weinert, Zur Pathologie und Klinik der Wunddiphtherie.	65*	organismen. I. Chlorophyll als Nährbodenbestandtheil.	290
Wolff s. Kuczynski.		Zuelzer s. Uhlenhuth.	
Zeiss, Heinz, Beiträge zur biologischen Wirkung des Chlorophylls auf Mikro-		Zuelzer, Margarete, Biologische und systematische Spirochätenuntersuchungen.	154*

## II. Sachverzeichnis.

Aktinomykose, Aetiologie.	357	Fleckfiebertvirus.	2*
Ambozeptor, Wirkung in Wasser unlöslicher Substanzen.	168*	Fleischvergiftungen, Aetiologie und Epidemiologie.	68*
Anophelenbeobachtung.	42	Friedländerscher Pneumoniebazillus, Beschaffenheit der Kapseln.	225
Antiformin zum Nachweis von Tuberkelbazillen.	121	— —, Gewinnung von Nukleoproteiden.	379
Argochrom, desinfizierende Wirkung.	46	Froschtuberkulose	249
Askariden im Pankreas.	27		
Bacillus X 19, Verhalten im Reagensglas und Tierkörper.	168*	Geflügelpocken.	366
Bacterium caviae, Zytologie.	1	Gliosarkom.	126
Bacterium pneumoniae Friedländer, Kapsel.	225	Gonokokken.	128*
— — —, Gewinnung von Nukleoproteiden.	379	Grippe s. a. Influenza.	
Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.	113*, 117*	Grippepandemie 1918—20.	12
—, Differenzierung säurefester.	25*	Hämorrhagische Septikämie, Bakterien der	113*, 117*
Balantidienerkrankung.	257	Hämotoxinbildungsvermögen von Proteusstämmen.	305
Blutkörperchen, Wirkung in Wasser unlöslicher Substanzen.	168*	Hühnerseuche, Erreger der Kleinschen.	193
Bolus alba-Verfahren zum Nachweis von Typhusbazillen.	284	Hühnertyphusbazillus Pfeiler-Rehse.	193
Botriomykom.	126	Hüllenbildung bei Ciliaten.	42*
		Hufkrebs-Geschwulst.	126
Cestoden im Pankreas.	27	Ichthyocytrium vulgare.	275
Chemotherapie der Typhusbazillenträger.	126*	Influenza, Aetiologie.	81
Chlorophyll als Nährbodenbestandteil.	291	—, Uebersichtsreferat.	43*
Choleval, desinfizierende Wirkung.	46	Influenzabazillus, Pfeifferscher.	12. 354
Ciliaten, Hüllenbildung.	43*	Infektion, peritoneale, Mechanismus.	99*
Craterostomum.	267	Kapsel der pathogenen Bakterien.	225
Cylicostomum.	267	Kleiderlaus, zur Frage des „Lebendiggebärens“.	377
— ultrajectinum.	372	Kleinsche Hühnerseuche.	193
Cysticercus von Dilepis undula.	370	Kollargol, desinfizierende Wirkung.	46
		Komplement, Wirkung in Wasser unlöslicher Substanzen.	168*
Desinfektion bei künstlich erniedrigtem Kochpunkte.	166	Komplementgewinnung mittels Herzpunktion.	281
Desinfizierende Wirkung einiger neuer Silberpräparate.	46	Konglutination, Studien.	221
Dilepis undula, Cysticercus.	370	Konglutiningehalt des Serums gesunder und kranker Rinder.	221
Diphtherie s. Wunddiphtherie.		Kupfersalze, entwicklungshemmende Wirkung.	136
Distomen im Pankreas.	27		
Dysenterie, bazilläre beim Hunde.	198	Laus, Kleider-, zur Frage des „Lebendiggebärens“.	377
—, Beobachtungen bei.	68	Lungenseuche, Diagnostik.	121*
Echinokokken im Pankreas.	27	Lyssa humana, atypische.	252
Encephalitis lethargica, Aetiologie.	261	—, Immunität.	359
Endothelzellen, Phagozytose.	126*		
Fettantikörper.	63*	Malariaparasiten bei afrikanischen Menschenaffen.	207
Filaria nycticebi.	216		
Fischeiweiß, Ueberempfindlichkeit.	122*		



Mäuse- und Rattenvertilgungsmittel, Gutachten.	186	Ruhr, Bakteriologie.	105*
Meerschweinchentuberkulose.	32*	Ruhramöben, Färbung.	122*
Melanosarkom.	126	Säureagglutination.	132*
Milzbrand, Nachweis im Fischmehl.	177	Säurefeste Bakterien, Differenzierung.	25*
Mitgliederliste der Freien Vereinigung für Mikrobiologie.	173*	Schizomyzeten, Zytologie.	1
Mucophilus cyprini.	278	Silberpräparate, desinfizierende Wirkung.	46
Nährboden, neuer aus Knochenfleischbrühe.	223	Spirochätenuntersuchungen.	141*. 154*
Nukleoproteide aus Bakterien.	379	Streptokokkenstudien, pathogenetische.	124*
Oxyuren, Biologie.	374	Tuberkelbazillen, Nachweis im Sputum.	121
Paradiphtheriebazillen.	96	Tuberkulose, Bekämpfung im Kindesalter.	35*
Parasiten bei Fischen.	275	—, chronische, bei Meerschweinchen.	32*
— im Pankreas.	27	—, Immunisierung.	26*
Paratyphus B, Aetiologie und Epidemiologie.	110, 68*	—, Infektion durch Fleisch und Milch.	23*
Peritoneale Infektion, Mechanismus.	99*	—, spontane, beim Frosch.	249
Pfeifferscher Influenzabazillus.	12. 354. 43*	Tumoren, Aetiologie und Biologie.	126
Phagozytose durch Endothelzellen.	126*	Typhoideen, biologische Bewertung.	71*
Plexus-Cholesteatom.	126	Typhus, bakteriologische und serologische Diagnose.	339. 349. 351
Pneumoniebazillus, Kapselbildung.	225	Typhusbazillen, Nachweis mittels des Boilus alba-Verfahrens.	284
Pocken, Auswertung von Vakzine und Vakzineimmunseris.	126*	Typhusbazillenträger, Untersuchungen über.	237
Pockendiagnose, Verwendung der Spaltlampe.	299	—, Chemotherapie.	125*
Periostomum.	267	Ueberempfindlichkeit gegen Fischeiweiß.	122*
Protargol, desinfizierende Wirkung.	46	Urotropin, bakterizide Wirkung.	63
Proteus, Hämotoxinbildungsvermögen.	305	Vakzine, Auswertung.	126*
Proteus X 19, Verhalten im Reagenzglas und Tierkörper.	168*	Vakzineimmunsera, Auswertung.	126*
Ratten- und Mäusevertilgungsmittel, Gutachten.	186	Weilsche Krankheit, Epidemiologie.	141*
Rhinosklerom, Aetiologie und Struktur.	38	Wunddiphtherie, bakteriologische Untersuchungen.	96. 65*
Rotlauf beim Menschen.	362	—, Pathologie und Klinik.	65*
Rotz, Uebersichtsreferat.	76*	Zytologie der Schizomyzeten.	1
Ruhr s. a. Dysenterie.			

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

Botryomykom, Schnittpräparate.	129. 130	Melanosarkom, Schnittpräparate.	132. 133
Christianscher Apparat, vereinfacht.	169	Parasiten in Haut und Kiemen von Fischen (Taf.)	281
Cholesteatom, Schnittpräparate.	131	Pockendiagnose am Kaninchenauge mittels der Spaltlampe (Taf.).	304
Cylicostomum ultrajectinum.	270. 373	Rhinosklerom.	39—41
Cysticercus von Dilepis undula.	371	Spirochäten, freilebende (Taf.).	166*
Filaria nycticebi (Taf. I, II).	221	Tarsonemus-Milbe.	128
Gliosarkom, Schnittpräparate.	134. 135	Tertianaparasiten im Blute eines Schimpansen.	213
Herzpunktion zur Komplementgewinnung.	282	Zytologie der Schizomyzeten.	12
Hufkrebageschwulst, Schnittpräparate.	127		
Malariaparasiten bei Menschenaffen (Taf.).	216		

13<sup>a</sup>  
PAGE. 25<sup>b</sup>

33

23

2000





DATE DUE SLIP  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA MEDICAL SCHOOL LIBRARY

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE  
STAMPED BELOW

DEC 28 1925  
7 DAY

JUN 19 1972  
RETURNED

JUN 13 1972

7 DAY

JUL -3 1972

RETURNED

JUN 27 1972

7 DAY

MAR 18 1974

RETURNED

MAR 6 1974

1m-7,'25

W. 85 Zentralblatt f. bakteri-  
1920 ologie (Originale 1 abt)  
-1921

E. Renell 1/21/36

17135

